

ROBERTA BORGES LA GUARDIA

**SISTEMA COLINÉRGICO CENTRAL MODULA OS AJUSTES
DOS SISTEMAS CARDIOVASCULAR E
TERMORREGULATÓRIO INDUZIDOS PELO EXERCÍCIO
FÍSICO ATÉ A FADIGA.**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE EDUCAÇÃO FÍSICA, FISIOTERAPIA E TERAPIA OCUPACIONAL
BELO HORIZONTE
2007**

ROBERTA BORGES LA GUARDIA

**SISTEMA COLINÉRGICO CENTRAL MODULA OS AJUSTES
DOS SISTEMAS CARDIOVASCULAR E
TERMORREGULATÓRIO INDUZIDOS PELO EXERCÍCIO
FÍSICO ATÉ A FADIGA.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Educação Física – Área de Concentração em Ciências do Esporte – da Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Educação Física.

Orientador: *Dr. Nilo Resende Viana Lima*

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE EDUCAÇÃO FÍSICA, FISIOTERAPIA E TERAPIA OCUPACIONAL
BELO HORIZONTE
2007**

ROBERTA BORGES LA GUARDIA

SISTEMA COLINÉRGICO CENTRAL MODULA OS AJUSTES DOS SISTEMAS
CARDIOVASCULAR E TERMORREGULATÓRIO INDUZIDOS PELO EXERCÍCIO
FÍSICO ATÉ A FADIGA.

Dissertação submetida à defesa, em 07 de dezembro de 2007, com a banca
examinadora constituída pelos professores:

Profa. Dra. Danusa Dias Soares
EEFFTO/UFMG

Profa. Dra. Umeko Marubayashi
ICB/UFMG

Prof. Dr. Nilo Resende Viana Lima
EEFFTO/UFMG

AGRADECIMENTOS

- Ao povo brasileiro pelo financiamento de meus estudos.
- À Universidade Federal de Minas Gerais pela oportunidade do curso que é oferecido com qualidade apesar de todas as dificuldades enfrentadas.
- Ao professor Dr. Nilo Resende Viana Lima pela confiança depositada, exemplo de ética profissional e mais do que isso, paciência, amizade e compreensão.
- Aos professores Dr. Luiz Oswaldo Rodrigues, Dr. Emerson Silami- Garcia, Dr. Luciano Sales Prado e Ms. Alex Guimarães Rodrigues, pela disponibilidade em ajudar no trabalho e pelo empréstimo de materiais necessários.
- À professora Dra. Danusa Dias Soares pelo acompanhamento, ajuda no financiamento do trabalho, exemplo e pela honra de tê-la como membro da banca avaliadora deste trabalho.
- À professora Dra. Umeko Marubayashi pelo exemplo de professora desde a graduação, pelo auxílio sempre que necessário e pela honra em tê-la como membro da banca avaliadora deste trabalho.
- Ao professor Dr. Cândido Celso Coimbra pelo exemplo, auxílio sempre que necessário e pela honra em tê-lo como membro da banca avaliadora deste trabalho.
- Aos demais professores desta escola pelo que foram ou pelo que tentaram ser.
- Aos grandes amigos que fiz no mestrado, pelo compartilhamento do conhecimento e momentos de descontração, em especial à Aline, Ana Carolina Vimieiro, Cristiano Lino, Edson Medeiros, Flávio Magalhães, Ivana, João Vítor, Kenya Paula, Letícia Maria, Liliane Peixoto, Lucas Mortimer, Luciana Madeira, Luciano Antonacci, Mariella Lacerda, Reinaldo Telles, Rodrigo, Thiago Mendes.

- Ao Samuel Penna Wanner, pelo auxílio no trabalho, pela sabedoria compartilhada, pela paciência, pela amizade incomparável e pelos momentos de alegria e tristeza divididos ao longo destes anos.
- À Juliana Bohnen Guimarães, pelo auxílio no trabalho, pela amizade, pela alegria no dia a dia.
- Ao Washington Pires, pelo auxílio no trabalho, pelo companheirismo durante todos estes anos, pela amizade e sabedoria compartilhada.
- Aos amigos que fiz neste laboratório durante este longo período em que estive por aqui, impossível descrever a família que foram para mim.
- Aos grandes amigos conquistados em favor do D. A.- EEEFTO que fizeram parte de minha vida durante todo este percurso, me dando um conhecimento inestimável para a vida.
- Às minhas grandes amigas, Fabiana, Giovanna, Juliana Nahas, Ana Paula e Cláudia, pelo carinho.
- Ao meu pai, que mesmo de longe, sempre me deu todo o apoio necessário para a realização deste percurso.
- À minha mãe, que mesmo não mais presente, sempre acreditou em minha capacidade de vencer os desafios da vida.
- Aos meus irmãos, Renata e Ronaldo, que sempre acreditaram em mim e me apoiaram neste desafio.
- À minha família, tios, tias, primos, primas, avôs (*in memorian*) e avós (*in memorian*), pelo apoio incondicional e amizade.

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi verificar os ajustes cardiovasculares e termorregulatórios mediados pelos receptores colinérgicos centrais e pelas catecolaminas periféricas durante o exercício físico até a fadiga. Foram utilizados ratos Wistar com massa corporal de 278 ± 5 g, que foram submetidos à cirurgia de adrenalectomia bilateral (ADM) ou sham (SHAM). Após a recuperação, os animais passaram por outras 3 cirurgias: implantes de cânula guia intracerebroventricular, de cateter na aorta via carótida esquerda e de sensor de temperatura intraperitoneal. Os animais foram subdivididos em 4 grupos: grupo SHAM ou ADM submetidos ao exercício (24 m/min e 5% de inclinação da esteira- $\sim 80\%$ do VO_{2max}) até a fadiga, SHAM ou ADM mantidos em repouso. Cada subgrupo passou por 2 situações experimentais: injeção icv de 2 μ L de 5×10^{-3} M de fisostigmina (FIS) ou NaCl 0,15 M (SAL). A temperatura ambiente foi $24,7 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$. O tempo total de exercício não foi diferente entre os grupos ou entre os tratamentos. No grupo ADM a FIS aumentou a pressão arterial média no exercício (ADM-EX-SAL 16 ± 4 mmHg vs ADM-EX-FIS 33 ± 3 mmHg, $p < 0,05$). A variação da temperatura intraperitoneal aumentou no grupo ADM-EX, mas não foi diferente entre os tratamentos (ADM-EX-SAL $0,5 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$ vs ADM-EX-FIS $0,5 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$). A variação da T_{cauda} aumentou no grupo ADM-EX sendo que foi maior no grupo tratado com FIS (ADM-EX-SAL $2,9 \pm 0,6^{\circ}\text{C}$ vs ADM-EX-FIS $4,1 \pm 0,^{\circ}\text{C}$, $p < 0,05$). Os receptores colinérgicos centrais modulam a dissipação de calor e os ajustes cardiovasculares durante o exercício independente da ação das catecolaminas periféricas.

ABSTRACT

The purpose of this study was to verify if the cardiovascular and thermoregulatory adjustments mediated by central cholinergic receptors and peripheral catecholamines during the physical exercise until fatigue. Wistar rats weighting 278 ± 5 g, were submitted to bilateral adrenomedullation (ADM) or sham (SHAM) surgery. After recovery, the animals were subjected to 3 additional surgeries: implantations of intracerebroventricular guide cannulae; of aortic catheter into left carotid and intraperitoneal implantation of thermal sensor. The animals were divided into 4 groups: SHAM or ADM groups submitted to exercise at 24 m/min and 5% inclination ($\sim 80\%$ of VO_{2max}) until fatigue, SHAM or ADM groups with no exercise. Each group received 2 experimental treatments: icv injection of $2 \mu\text{L}$ of 5×10^{-3} M physostigmine (FIS) or $0,15$ M NaCl (SAL). Environmental temperature was $24,7 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$. No difference was found between groups or treatments in time to fatigue. In ADM group the FIS increased exercise mean blood pressure (ADM-EX-SAL 16 ± 4 mmHg vs ADM-EX-FIS 33 ± 3 mmHg, $p < 0,05$). The intraperitoneal temperature increased in the ADM-EX group, but wasn't different between the treatments (ADM-EX-SAL $0,5 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$ vs ADM-EX-FIS $0,5 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$). The tail temperature increased in the ADM-EX-FIS group (ADM-EX-SAL $2,9 \pm 0,6^{\circ}\text{C}$ vs ADM-EX-FIS $4,1 \pm 0,^{\circ}\text{C}$, $p < 0,05$). No difference was found between ADM and SHAM. Heat loss and cardiovascular adjustments modulated by the central cholinergic receptors during exercise are independent from the action of peripheral catecholamines.

SUMÁRIO

1 - INTRODUÇÃO.....	01
1.1. – Objetivo.....	18
1.2. – Hipótese.....	18
2 – MATERIAIS E MÉTODOS.....	19
2.1. – Cuidados Éticos.....	20
2.2. – Animais.....	20
2.3. – Procedimentos cirúrgicos.....	21
2.4. – Variáveis medidas.....	25
2.4.1. – Temperatura ambiente seca e úmida.....	25
2.4.2. – Temperatura ambiente dentro da esteira.....	25
2.4.3. – Temperatura da pele da cauda.....	25
2.4.4. – Temperatura intraperitoneal.....	26
2.4.5. – Pressão arterial pulsátil.....	26
2.4.6. – Tempo total de exercício.....	27
2.5. – Adaptação ao exercício na esteira rolante.....	27
2.6. – Injeção no ventrículo cerebral lateral direito.....	28
2.7. – Grupos experimentais.....	28
2.8. – Delineamento experimental.....	29
2.8.1. – Experimento.....	30
2.9. – Análise Estatística.....	31
3 – RESULTADOS.....	32
3.1. – Temperatura total de exercício.....	33
3.2. – Parâmetros cardiovasculares.....	34
3.3. – Temperatura da pele da cauda.....	51
3.4. – Temperatura intraperitoneal.....	57
3.5. – Parâmetros de controle.....	63

4 – DISCUSSÃO.....	65
5 – CONCLUSÃO.....	80
6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	82

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	34
Valores basais da pressão arterial média, sistólica, diastólica e frequência cardíaca, do grupo sham mantido em repouso.	
Tabela 2	37
Valores basais da pressão arterial média, sistólica, diastólica e frequência cardíaca, do grupo adrenodemedulado mantido em repouso.	
Tabela 3	43
Valores basais da pressão arterial média, sistólica, diastólica e frequência cardíaca, do grupo sham submetido ao exercício físico.	
Tabela 4	46
Valores basais da pressão arterial média, sistólica, diastólica e frequência cardíaca, do grupo adrenodemedulado submetido ao exercício físico.	
Tabela 5	51
Valores basais da temperatura da pele da cauda, dos grupos sham e adrenodemedulado mantidos em repouso.	
Tabela 6	54
Valores basais da temperatura da pele da cauda, dos grupos sham e adrenodemedulado submetidos ao exercício físico.	
Tabela 7	57
Valores basais da temperatura intraperitoneal, dos grupos sham e adrenodemedulado mantidos em repouso.	
Tabela 8	60
Valores basais da temperatura intraperitoneal, dos grupos sham e adrenodemedulado submetidos ao exercício físico.	

Tabela 9.....63

Massa corporal, temperatura da esteira, temperatura ambiente seca e temperatura ambiente úmida na situação de repouso.

Tabela 10.....64

Massa corporal, temperatura da esteira, temperatura ambiente seca e temperatura ambiente úmida na situação exercício.

LISTA DE FIGURAS.

Figura 1	12
Barorreflexo.	
Figura 2	29
Divisão dos grupos experimentais.	
Figura 3	30
Delineamento experimental.	
Figura 4	31
Procedimento experimental dos ratos submetidos ao exercício.	
Figura 5	31
Procedimento experimental dos ratos submetidos ao repouso.	
Figura 6	33
Tempo total de exercício.	
Figura 7	36
Δ Pressão arterial média, sistólica e diastólica e freqüência cardíaca dos animais sham em repouso.	
Figura 8	39
Δ Pressão arterial média, sistólica e diastólica e freqüência cardíaca dos animais adrenalectomizados em repouso.	
Figura 9	42
Área sob a curva da Δ Pressão arterial média, sistólica e diastólica e freqüência cardíaca dos animais sham e adrenalectomizados em repouso.	

Figura 10	45
Δ Pressão arterial média, sistólica e diastólica e frequência cardíaca dos animais sham submetidos ao exercício.	
Figura 11	48
Δ Pressão arterial média, sistólica e diastólica e frequência cardíaca dos animais adrenodemedulados submetidos ao exercício.	
Figura 12	50
Área sob a curva da Δ Pressão arterial média, sistólica e diastólica e frequência cardíaca dos animais sham e adrenodemedulados submetidos ao exercício.	
Figura 13	52
Δ Temperatura da pele da cauda dos animais sham e adrenodemedulados em repouso.	
Figura 14	53
Área sob a curva da Δ Temperatura da pele da cauda dos animais sham e adrenodemedulados em repouso.	
Figura 15	55
Δ Temperatura da pele da cauda dos animais sham e adrenodemedulados submetidos ao exercício.	
Figura 16	56
Área sob a curva da Δ Temperatura da pele da cauda dos animais sham e adrenodemedulados submetidos ao exercício.	
Figura 17	58
Δ Temperatura intraperitoneal dos animais sham e adrenodemedulados em repouso.	

Figura 18.....59

Área sob a curva da Δ Temperatura intraperitoneal dos animais sham e adrenodemedulados em repouso.

Figura 19.....61

Δ Temperatura intraperitoneal dos animais sham e adrenodemedulados submetidos ao exercício.

Figura 20.....62

Área sob a curva da Δ Temperatura intraperitoneal dos animais sham e adrenodemedulados submetidos ao exercício.

1. INTRODUÇÃO

O modelo animal é muito utilizado atualmente no mundo inteiro para diversos tipos de pesquisas. São várias as finalidades dos experimentos realizados com animais nas universidades brasileiras. Este tipo de modelo ainda é pouco utilizado na área da Educação Física, mas já está sendo reconhecido como um método eficiente e necessário para a produção de ciência. Vários estudos não só na fisiologia do exercício, mas também na biomecânica vêm adotando este método de pesquisa. No caso da fisiologia do exercício, o modelo animal é utilizado como meio para investigar mecanismos que não são possíveis de serem analisados diretamente em humanos, devido não só aos métodos invasivos, mas também a um maior controle diário das situações ocorridas.

Com estes objetivos, já há alguns anos, o Laboratório de Fisiologia do Exercício da Universidade Federal de Minas Gerais utiliza o modelo animal no estudo do sistema termorregulatório durante o exercício físico e demais sistemas que influenciam na termorregulação.

O hipotálamo é o centro coordenador das respostas termofetoras que regulam a temperatura corporal (HAMMEL, 1965).

Existem animais que conseguem manter a temperatura corporal interna dentro de limites estreitos de alteração (aproximadamente 1°C de variação), de maneira pouco dependente à variação da temperatura ambiente, dentro de uma determinada faixa que vai de 30 a 40°C (RODRIGUES et al, 1999). Estes animais são chamados homeotérmicos. Esta homeostase é mantida por processos autonômicos e comportamentais. A temperatura corporal interna é constantemente regulada como resultado do equilíbrio dinâmico entre a produção e a dissipação do calor (RODRIGUES et al, 1999 e WEEB, 1995).

A área preótica/ hipotálamo anterior tem uma importante função na regulação da temperatura corporal. As respostas desencadeadas pelo sistema nervoso

autônomo variam de acordo com a temperatura ambiente na qual o animal se encontra, mantendo um equilíbrio dinâmico entre produção e dissipação de calor. Neurônios sensíveis à temperatura do sangue que perfundem o hipotálamo, além de termorreceptores localizados na pele, nas vísceras e na medula espinhal conduzem impulsos nervosos aferentes ao hipotálamo para a regulação da temperatura corporal (RODRIGUES et al, 1999).

A temperatura cerebral é detectada por neurônios termossensíveis. A maioria destes sensores é sensível ao calor, isto, porque a fisiologia térmica é assimétrica, ou seja, a temperatura corporal normal é mais próxima da temperatura corporal limite máxima de sobrevivência (poucos graus), que é determinada pela possibilidade de desnaturação de proteínas regulatórias, que da temperatura corporal limite mínima (poucas dezenas), que é determinada pelo congelamento da água corporal (ROMANOVSKY, 2007).

Existem também algumas alterações termorregulatórias provocadas pelo exercício. O exercício aumenta a produção metabólica de calor e simultaneamente aumenta a perda de calor para manter a temperatura corporal interna.

Existem estruturas especializadas em dissipar calor, elas são caracterizadas por uma alta relação entre volume - superfície, ausência de pêlos, densa rede de vasos sangüíneos e a presença de anastomoses arteriovenosas, como exemplo, temos a mão humana, a orelha do coelho e a cauda do rato (ROMANOVSKY et al, 2002).

Nos ratos, o principal mecanismo de dissipação de calor é a convecção pela pele da cauda. Além disso, estes animais espalham saliva pela superfície corporal também constitui um mecanismo de perda de calor, porém este mecanismo é desconsiderado durante o exercício físico na esteira rolante, porque o animal não consegue correr e espalhar saliva pelo corpo ao mesmo tempo.

Sob temperatura ambiente constante, a temperatura da pele da cauda do rato é considerada proporcional ao fluxo sanguíneo para a cauda e os efeitos de uma droga ou agente químico no fluxo sanguíneo para a pele da cauda podem ser analisados pela medida da temperatura da pele da cauda do rato (GORDON et al, 2002; JOHNSON e PARK, 1979 e OWENS et al, 2002). Isto foi constatado no estudo de Gordon et al (2002) quando a temperatura da pele da cauda do rato aumentou 0,5°C, após um aumento da temperatura ambiente de 21,5°C para 23,0°C e depois para 25°C; quando a temperatura ambiente subiu para 27°C, a temperatura da pele da cauda do rato aumentou 2°C. A temperatura ambiente foi então aumentada para 29°C e 30,5°C e a temperatura da pele da cauda do rato subiu mais 1,5°C.

O principal meio de irrigação da cauda é via veias laterais caudais, que são as veias largas da cauda, as quais se comunicam com a veia caudal ventral via anastomoses segmentais (YOUNG e DAWSON, 1982). A veia ventral é pequena quando comparada com as veias laterais e as artérias laterais são pequenas quando comparadas com a artéria ventral, portanto pode-se dizer que o fluxo predominante da cauda está nos vasos laterais (YOUNG e DAWSON, 1982).

Em humanos a pele é inervada por dois ramos distintos do sistema nervoso simpático: um sistema vasoconstrictor adrenérgico, que contribui para o tônus vascular cutâneo de repouso, e outro vasodilatador colinérgico (KELLOG Jr et al, 1995).

Segundo Sawazaki et al (2001), o tônus vascular em humanos é controlado predominantemente via sistema nervoso simpático, além de outras respostas regulatórias da temperatura corporal como a sudorese e a piloereção.

As veias cutâneas dilatam e contraem em resposta à variação tanto da temperatura ambiente quanto da temperatura corporal interna, contribuindo para a

manutenção de uma temperatura corporal constante pelo controle da perda ou conservação de calor corporal pela superfície da pele (SAWASAKI et al, 2001).

O tônus vascular da pele do rato, é controlado pelo tônus simpático com os corpos celulares dos neurônios pré – ganglionares localizados na coluna intermediolateral da medula espinhal (ROMANOVSKY, 2007). Estes neurônios espinhais recebem projeções excitatórias direto das células localizadas primariamente na área piramidal do bulbo e da rafe (ROMANOVSKY, 2007). Estas células bulbares estão possivelmente sob controle dos neurônios do hipotálamo, do mesencéfalo e da ponte que recebem impulso das células sensíveis ao calor da área preótica (ROMANOVSKY, 2007).

O sistema termorregulatório influencia nas catecolaminas periféricas. O sistema catecolaminérgico é composto pela noradrenalina, transmissor nas fibras simpáticas pós–ganglionares e em alguns tratos no sistema nervoso simpático, a dopamina, o principal transmissor das vias extrapiramidais dos mamíferos e algumas vias mesocorticais e mesolímbicas, e pela adrenalina, o principal hormônio da medula da adrenal (GILMAN et al, 1990).

A glândula adrenal dos mamíferos consiste de duas partes anatomicamente distintas: a parte externa é o córtex que sintetiza hormônios esteróides e a parte interna é a medula que contém células cromafínicas que produzem catecolaminas (HODEL, 2001).

Os três principais tipos de hormônios esteróides produzidos pelo córtex são: mineralocorticóides (controlam as concentrações eletrolíticas no fluido extracelular), glicocorticóides (regula o metabolismo dos carboidratos, proteínas e das gorduras) e androgênios (têm efeitos anabólicos) (HODEL, 2001).

O cortisol (em humanos) e a corticosterona (em roedores) são os dois principais tipos de glicocorticóides. Eles são secretados pela parte cortical da

adrenal próxima à medula (zona reticular e fasciculada) dentro do sistema vascular local (HODEL, 2001). Eles são de natureza hidrofóbica o que facilita a sua difusão para o tecido da medula, o que representa um caminho curto e direto dos glicocorticóides até as células cromafínicas (HODEL, 2001). O cortisol sintetiza a enzima feniletanolamina-N-metiltransferase, responsável por transformar noradrenalina em adrenalina (GRIFFIN e OJEDA, 1992). A ativação dos receptores de glicocorticóides das células cromafínicas altera a expressão gênica causando efeitos fisiológicos múltiplos que provocam a secreção de catecolaminas (HODEL, 2001).

Os receptores que respondem à adrenalina e noradrenalina são denominados adrenérgicos e são de dois tipos: α e β . Os receptores adrenérgicos α e β estão presentes em muitos tecidos e as respostas variam de acordo com seus subtipos (GRIFFIN e OJEDA, 1992).

A noradrenalina liberada pelas terminações nervosas simpáticas exerce efeito rápido, já a adrenalina e a noradrenalina liberadas pela medula da adrenal produzem efeitos via circulação sangüínea (menos rápidos) (YOUNG, 1982).

Têm se sugerido que a síntese de adrenalina ocorre provavelmente não só na medula adrenal, mas também em alguns neurônios cerebrais (GRIFFIN e OJEDA, 1992).

Em determinados tecidos, os receptores adrenérgicos podem ser mais sensíveis às catecolaminas circulantes que para a noradrenalina liberada localmente e vice-versa, portanto certos processos fisiológicos podem ser afetados diferentemente pela noradrenalina liberada neuralmente e pelas catecolaminas circulantes de origem medular adrenal (YOUNG et al, 1984).

A sensibilidade dos receptores também é dependente, do tipo de catecolamina que o estimula. A noradrenalina, por exemplo, é mais potente na

ativação dos receptores β nas veias coronárias, mas nas veias do músculo esquelético a adrenalina é mais potente (MOUNTCASTLE, 1980).

Algumas das respostas mediadas pelas catecolaminas e receptor β são: aumentos da glicogenólise e da lipólise; redução da utilização de glicose como substrato; aumentos das secreções de insulina e de glucagon; aumento da captação de K^+ para o músculo; dilatação das arteríolas musculares; aumentos da contratilidade cardíaca (β_1); da frequência cardíaca (β_1); do débito cardíaco (β_1) (GRIFFIN e OJEDA, 1992). As respostas mediadas pelas catecolaminas e receptor α são: aumento da gliconeogênese; redução da secreção de insulina; aumentos da vasoconstrição arteriolar esplâncnica, renal, cutânea e genital; aumento da contração do esfíncter; sudorese; dilatação da pupila entre outros (GRIFFIN e OJEDA, 1992).

A vasodilatação mediada pelos adrenoceptores β tem um importante papel fisiológico na regulação do tônus vascular. A estimulação dos adrenoceptores β leva ao relaxamento do músculo liso, o que controla a resistência vascular e conseqüentemente a distribuição do sangue por diferentes órgãos (GUIMARÃES e MOURA, 2001). Durante o exercício, a ativação dos adrenoceptores β contribui para o aumento do fluxo sangüíneo para o músculo esquelético (GUIMARÃES e MOURA, 2001).

Em humanos, a concentração plasmática de adrenalina e noradrenalina aumenta diretamente em relação à intensidade do exercício, podendo chegar a ser trinta vezes maior que no repouso, o que pode provocar um forte efeito vascular (GUIMARÃES e MOURA, 2001).

As catecolaminas têm como funções básicas durante o exercício: elevar o débito cardíaco, regular o calibre dos vasos sangüíneos, aumentar o catabolismo de glicogênio e a liberação de ácidos graxos.

O controle simpático da circulação sistêmica envolve tanto receptores α quanto β , sendo que a predominância de ativação dos receptores α provoca vasoconstrição e a dos receptores β provoca vasodilatação.

Os adrenoceptores α_2 são muito sensíveis a alterações na temperatura e são abundantes nas veias cutâneas, como na cauda do rato, elas parecem ser importantes para a termorregulação por facilitarem a contração do vaso durante o frio e a dilatação no ambiente quente (GUIMARÃES e MOURA, 2001).

A medula adrenal está sob ação tônica das fibras colinérgicas do sistema simpático especializado em secretar catecolaminas (GRIFFIN, e OJEDA, 1992). Os nervos secretores da medula são os esplâncnicos maiores, que são fibras pré-ganglionares e que se dirigem as células cromafínicas (GRIFFIN e OJEDA, 1992). Isto causa a liberação de acetilcolina como neurotransmissor, que ativa os receptores nicotínicos (GRIFFIN e OJEDA, 1992). A acetilcolina liberada aumenta a permeabilidade da membrana, liberando então as catecolaminas. A quantidade de adrenalina produzida pela medula adrenal é aproximadamente quatro vezes maior que a de noradrenalina (GRIFFIN e OJEDA, 1992).

Segundo Gilman et al (1990), a acetilcolina é o neurotransmissor de todas as fibras parassimpáticas pós-ganglionares, com exceção no sistema digestivo em algumas fibras simpáticas pós – ganglionares e em três outras classes de nervos: fibras pré-ganglionares tanto do sistema simpático quanto do parassimpático, nervos motores dos músculos esqueléticos e certos neurônios do sistema nervoso central.

Quando o potencial de ação atinge o neurônio pré-ganglionar, ativa a enzima colina acetiltransferase, responsável por juntar a acetil-coenzima A (Acetil-CoA) e a colina (na maioria das vezes nas terminações nervosas), formando a acetilcolina. Este neurotransmissor é armazenado pela ação da enzima transportadora vesicular de acetilcolina (PRADO et al, 2002), no sinatoplasma e nas vesículas sinápticas que se localizam nas terminações nervosas colinérgicas.

Para a sua liberação, as vesículas sinápticas se fundem com a membrana plasmática e esvaziam todo o seu conteúdo na fenda sináptica por exocitose. Ao ser liberada, ela se fixa aos seus receptores na terminação pós-sináptica. A degradação da acetilcolina, em colina e acetato é feita pela enzima acetilcolinesterase, uma glicoproteína globular que se localiza nas fendas sinápticas. Ela existe em múltiplas formas e é específica para a acetilcolina.

Existem dois tipos de receptores colinérgicos, os nicotínicos e os muscarínicos. Encontramos os receptores muscarínicos em todas as células alvos do sistema nervoso parassimpático, assim como nas células alvos nos neurônios pós ganglionares simpáticos que são colinérgicos. Já os nicotínicos são encontrados nas sinapses entre os neurônios pré e pós ganglionares.

A fisostigmina é um dos principais bloqueadores acetilcolinesterásicos, de modo que a acetilcolinesterase normalmente presente nas sinapses, não hidroliza a acetilcolina liberada na placa motora na presença de fisostigmina. A ligação da fisostigmina com a acetilcolinesterase é reversível (MATTEW et al, 1992). Ela é um composto amino terciário que atravessa a barreira hematoencefálica (ALDERDICE, 1979) e não causa grande variação no pH fisiológico (BUCCAFUSCO, 1996).

A acetilcolina liberada pelas terminações nervosas esplâncnicas provoca a liberação de catecolaminas pelas células cromafínicas da medula da adrenal (AKIYAMA et al, 2004). Este aumento da liberação de adrenalina também foi

observado no estudo de Igushi et al (1991) após injeção intracerebroventricular de neostigmina, outro anticolinesterásico.

A administração intravenosa de fisostigmina aumentou a liberação de catecolaminas pelas adrenais (KAUL e GREWAL, 1968) mas, este aumento não ocorreu nos animais desnervados, indicando que a fisostigmina produziu este efeito centralmente (KAUL e GREWAL, 1968). A injeção intracerebroventricular de colina (outro agonista colinérgico) também aumentou a concentração de catecolaminas no plasma e na urina (ARSLAN et al, 1991).

A injeção intracerebroventricular de fisostigmina em ratos, aumentou a glicemia, tanto durante o repouso quanto durante o exercício físico, sendo esta resposta abolida nos ratos adrenodemedulados, sugerindo que o sistema colinérgico aumenta a glicemia via ativação do sistema simpático–adrenal (RODRIGUES, 2000).

O sistema colinérgico participa de diversas funções homeostáticas: regulação da pressão arterial; transporte de hormônios reguladores a seus órgãos - alvo; regulação da temperatura corporal e está envolvido em ajustes de estados fisiológicos alterados.

Há evidências que receptores colinérgicos hipotalâmicos participam do mecanismo de dissipação de calor. Rodrigues et al (2004) verificaram que a injeção intracerebroventricular de fisostigmina (5×10^{-3} M) aumentou o consumo de oxigênio sem alterar a temperatura colônica em ratos em repouso, sugerindo que também houve aumento da dissipação do calor. Entretanto durante o exercício, não houve diferença no consumo de oxigênio entre tratamentos fisostigmina e salina e observou-se um menor aumento da temperatura colônica com o anticolinesterásico, novamente sugerindo uma maior dissipação de calor conseqüente a uma maior atividade colinérgica central.

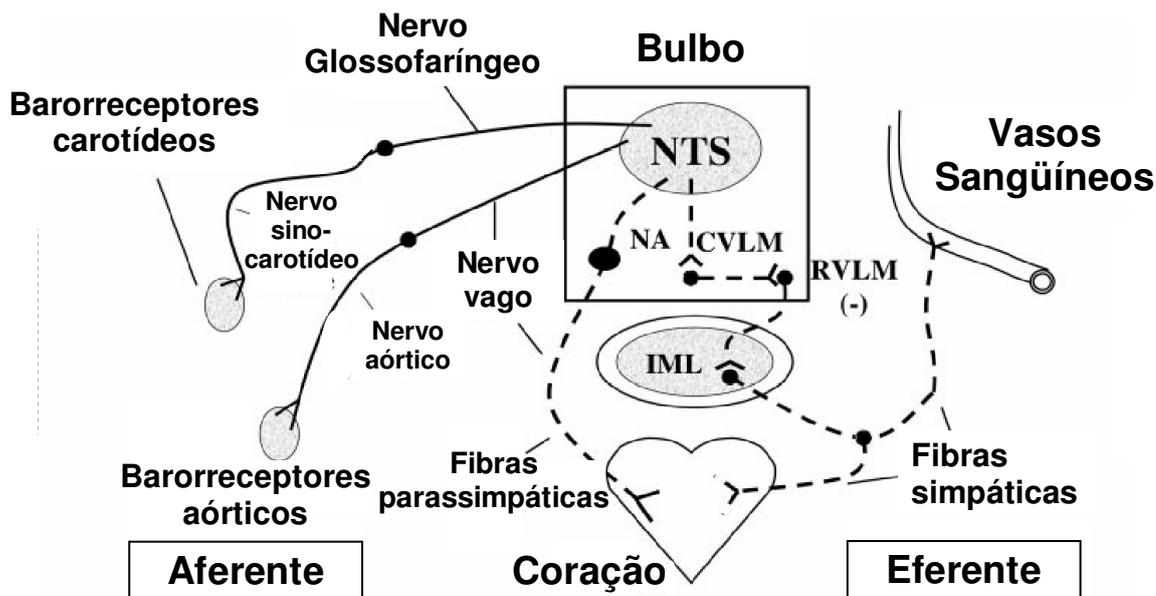
Guimarães (2003), Rodrigues (2000) e Gomes – Filho (2000), constataram a participação das catecolaminas periféricas nos mecanismos termorregulatórios. No entanto, no estudo de Guimarães (2003), observou-se que o efeito das catecolaminas periféricas não foi capaz de modificar a taxa de acúmulo de calor durante o repouso ou em exercício em ratos adrenodemedulados expostos ao frio, sugerindo a participação de mecanismos compensatórios neste processo.

A temperatura corporal influencia diretamente no tempo total de exercício, que corresponde ao intervalo de tempo entre o início do exercício ao momento de fadiga. A fadiga corresponde à incapacidade de suportar por mais tempo um exercício numa determinada intensidade e duração (RODRIGUES e SILAMI - GARCIA, 1998).

Existem várias definições diferentes para a fadiga, mas a definição adotada para a realização deste trabalho foi a de Rodrigues e Silami - Garcia, 1998.

Segundo estes autores, a fadiga é um mecanismo protetor que age pela combinação de diversos fatores, dentre eles: termorregulatório, sistema neuro - endócrino, disponibilidade de substratos, equilíbrio ácido – básico e hidroeletrolítico e sistema cardiorrespiratório. Quando algum sistema ou o conjunto de sistemas atinge um limite de segurança geral para o aumento do metabolismo durante o exercício não conseguindo manter a homeostase, a fadiga é desencadeada.

A pressão arterial é controlada por vários sistemas. O barorreflexo, é um dos principais mecanismos de controle do sistema cardiovascular. Este mecanismo é demonstrado no esquema de O'Donoghuy et al, 2002.



Vias aferentes e eferentes do barorreflexo. NTS- núcleo do trato solitário; CVLM- bulbo ventrolateral caudal; RVLM- bulbo ventrolateral rostral; IML- substância cinza intermediolateral; NA- núcleo ambíguo

(O'Donoghuy et al, 2002)

Figura 1. Barorreflexo.

O sistema humoral também está envolvido no controle da pressão arterial. O aumento da pressão arterial resulta em redução da concentração de catecolaminas periféricas, da vasopressina e de angiotensina II. A secreção das catecolaminas periféricas ocorre pela estimulação dos nervos simpáticos na medula adrenal. A secreção de vasopressina é controlada pelos osmorreceptores hipotalâmicos que regulam a sua liberação pela neuro-hipófise. A ação do hipotálamo e a liberação da enzima renina são controladas pela ação dos nervos simpáticos nos rins e pela cascata do sistema renina – angiotensina. Estas substâncias têm propriedades vasoconstritoras e contribuem para os ajustes reflexos na resistência vascular.

Os quimiorreceptores também participam do controle da pressão arterial e estão localizados nos corpos carotídeos e aórticos (as mesmas regiões em que se

localizam os barorreceptores). Grande quantidade de fluxo sanguíneo arterial passa por estes receptores que são sensíveis à alteração de PO_2 , PCO_2 e pH. Eles estão principalmente envolvidos no controle da respiração e auxiliam na detecção de alterações na pressão parcial dos gases no sangue. E sua estimulação modifica o tônus vascular que pode alterar a pressão arterial.

As ações da adrenalina e da noradrenalina no miocárdio são similares. Os efeitos das catecolaminas no coração incluem o aumento da contratilidade, alta velocidade de condução, aumento da frequência cardíaca, encurtamento da duração do potencial de ação, encurtamento da sístole e indiretamente causam vasoconstrição.

O objetivo final do barorreflexo, sistema humoral e quimiorreflexo é o de regular os tecidos cardiovasculares alvo mantendo a pressão arterial em uma faixa de variação apropriada que seja capaz de manter a perfusão sanguínea para os tecidos e seletivamente controlar o fluxo simpático envolvido no controle metabólico e termorregulatório (MORRISON, 2001).

Para que o exercício ocorra, são necessárias algumas variações no sistema cardiovascular, tais como: aumento do débito cardíaco, da frequência cardíaca, da pressão arterial média e da pressão arterial sistólica.

Porém, se o barorreflexo funciona como um mecanismo de feedback negativo, então a frequência cardíaca e pressão arterial não poderiam subir simultaneamente como ocorre no exercício.

Silva et al (1997) demonstraram que embora não ocorrendo bradicardia reflexa os barorreceptores estão ativos durante o exercício. Foi então levantada a questão sobre a causa das mudanças da sensibilidade do barorreflexo durante o exercício.

Alguns estudos (DICARLO e BISHOP, 1992; PIRES et al, 2007; PRAKASH et al, 2004, ROWELL e O'LEARY, 1990) mostram que o barorreflexo é reajustado durante o exercício. Pires et al (2007) mostrou que a variação da pressão arterial e da frequência cardíaca durante o exercício após estimulação colinérgica não foi diferente daquela do repouso verificada, concluindo assim que a sensibilidade dos barorreceptores não é diferente entre o repouso e exercício.

Durante o exercício ocorre aumento da atividade simpática, o que provoca a liberação de adrenalina e noradrenalina na circulação e essas catecolaminas quando ligadas a receptores α -adrenérgicos causam a vasoconstrição (O'LEARY, 1985 e YANAGIYA, 1999), aumentando o retorno venoso e regulando a pressão arterial média.

Em condições de repouso e durante o exercício físico, a regulação da pressão arterial a curto prazo envolve a pré-ativação de circuitos neurais no sistema nervoso central, a atividade autonômica eferente e a estimulação dos pressos e metaborreceptores periféricos (ROWELL, 2004). Estes receptores enviam a informação aferente acerca das respostas periféricas de volta aos centros cerebrais superiores (retro-alimentação). Os mecanismos de pré-alimentação, também conhecidos como comando central, constituem-se da ativação paralela das vias centrais motoras e simpáticas durante o exercício (GOODWIN et al, 1972).

Simultaneamente ao início da contração muscular, ocorre retirada do tônus vagal e aumento da atividade neural nos centros de controle cardiovascular localizados no hipotálamo e bulbo, o que provoca um aumento da atividade simpática para o coração e vasos, resultando no aumento da pressão arterial (CHALMERS e PILOWSKY 1991; SCHEURINK et al, 1990).

A razão entre a pressão sangüínea e a resistência em uma determinada rede vascular periférica determina o fluxo sangüíneo (BEVAN e LAHER, 1991). Durante o exercício, mesmo com vasoconstrição provocada pelo aumento da atividade simpática, o fluxo sangüíneo periférico pode ser aumentado devido a aumentos na pressão de perfusão sangüínea (GUYTON, 1959).

Alguns estudos têm demonstrado que a estimulação das sinapses colinérgicas por meio de injeções centrais de agonistas colinérgicos aumentam a pressão arterial média de ratos (BREZENOFF et al, 1994; LI et al, 1997; MEDINA et al, 1997; PALMA et al, 2004; PIRES et al, 2007).

No estudo de Kubo et al (2003) a injeção de um inibidor da acetilcolinesterase, na parte rostral da área septal lateral, provocou um aumento na pressão arterial que foi inibido pela prévia injeção de 4 - DAMP (antagonista dos receptores muscarínicos M_1 e M_3).

Lazartigues et al (1998) verificaram em ratos que a injeção de um anticolinesterásico, causou aumento da pressão arterial e redução da freqüência cardíaca, e sugeriu que estas repostas induzidas pelos inibidores da acetilcolinesterase poderiam ser independentes. Os dados também sugerem o envolvimento do sistema colinérgico central na regulação da pressão arterial, principalmente via receptores muscarínicos M_2 e parcialmente M_1 . Porém, Buccafusco (1996) relatou que não existe resposta cardiovascular definida sob estimulação dos receptores colinérgicos centrais, tais como aumentos, reduções e alterações bifásicas têm sido encontrados na pressão arterial e freqüência cardíaca (BUCCAFUSCO, 1996). Esta diversidade de respostas para a estimulação colinérgica central deve-se à vários fatores, incluindo a especificidade das espécies, seletividade de drogas, local anatômico de aplicação da droga e a indução ou não da anestesia (BUCCAFUSCO, 1996).

É aceito que a ativação colinérgica central aumenta a pressão arterial pela ação de neurônios catecolaminérgicos periféricos, o que leva a um aumento no fluxo de perfusão do sistema nervoso central para o sistema simpático - adrenal (ARSLAN, et al, 1991). No mesmo estudo a adrenalectomia bilateral e o pré – tratamento com atropina, atenuaram o aumento da pressão arterial sem influenciar na frequência cardíaca.

Já o estudo de Kaul e Grewal (1968) mostrou um aumento na pressão arterial após injeção intravenosa de fisostigmina animais adrenalectomizados anestesiados, comparados com controles.

Todos estes sistemas acima citados, também influenciam no controle da temperatura corporal interna.

O tempo total de exercício de ratos injetados intracerebroventricularmente com fisostigmina não é diferente dos ratos submetidos à injeção de salina (RODRIGUES, 2004 e PIRES, 2007).

Porém, estudos anteriores de nosso laboratório, mostraram que o bloqueio colinérgico central reduz a capacidade máxima do exercício (GUIMARÃES, 2007; LIMA et al, 1998 e WANNER, 2006) e interfere no controle metabólico durante o exercício em ratos (LIMA, et al, 1998), sendo que, em ratos adrenodemedulados, a atropina (antagonista colinérgica) intracerebroventricular reduziu o tempo total de exercício a 5% do tempo total observado nos ratos intactos que receberam injeção de salina. Estes resultados mostram que há participação das aferências colinérgicas hipotalâmicas no controle central da manutenção do exercício e que sua contribuição se torna ainda mais importante após a adrenodemedulação.

É sugerido também que as catecolaminas podem interferir na fadiga. No estudo de Winder et al (1987) foi encontrada diferença no tempo total de exercício entre ratos adrenodemedulados e os sham, provavelmente devido a hipoglicemia

causada pela ausência de adrenalina periférica. Já os estudos de Gomes - Filho (2000), Guimarães (2003) e Rodrigues (2000) não encontraram esta diferença.

A temperatura ambiente tem uma relação linear negativa com a pressão arterial. Tem sido visto que pequenas alterações na temperatura ambiente podem influenciar o sistema nervoso autonômico, o que pode alterar a pressão arterial, frequência cardíaca e taxa metabólica (SWOAP et al, 2004). Isto enfatiza a necessidade de controlar, em experimentos, a temperatura ambiente durante a colheita de variáveis cardiovasculares (SWOAP et al, 2004).

No estudo de Pires et al (2007) a injeção intracerebroventricular de fisostigmina (5×10^{-3} M), em ratos em livre movimento, provocou aumento da pressões arteriais média, sistólica e diastólica. Posteriormente ocorreu redução da frequência cardíaca e temperatura intraperitoneal, logo após, aumento da temperatura da pele da cauda do rato, possibilitando concluir que a fisostigmina aumentou a dissipação de calor, com o objetivo de fazer a pressão arterial retornar a seus valores basais.

No mesmo estudo, porém durante o exercício, foram encontradas respostas semelhantes às do repouso, mantendo a ordem temporal de alteração das variáveis.

Os estudos mostrados demonstram que o mecanismo provocado pela ativação do sistema colinérgico, modifica variáveis cardiovasculares e termorregulatórias, mas o mecanismo ainda não está claro nem em repouso, nem durante o exercício.

Fehlner e Gordon (1985) verificaram que a atividade das sinapses colinérgicas na área preótica / hipotálamo anterior aumenta com a redução da temperatura ambiente e que o sistema colinérgico, possivelmente, ativa respostas de dissipação de calor em ratos. Esta hipótese sobre a dissipação é corroborada pelo estudo de Pires et al (2007) com ratos em livre movimento e em exercício pelo

aumento da dissipação de calor após a injeção intracerebroventricular de fisostigmina.

Os estudos anteriores mostram que os mecanismos colinérgicos centrais da termorregulação e sistema cardiovascular têm sido analisados. Porém estes mecanismos ainda não estão claros.

1.1. Objetivo

Estudar os efeitos mediados pelos receptores colinérgicos centrais e pelas catecolaminas periféricas durante o exercício físico até a fadiga sobre os ajustes cardiovasculares e termorregulatórios.

1.2. Hipótese

Os ajustes cardiovasculares e termorregulatórios são mediados pelos receptores colinérgicos centrais e pelas catecolaminas periféricas durante o exercício físico até a fadiga.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Cuidados Éticos

Os procedimentos utilizados na experimentação foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CETEA) da Universidade Federal de Minas Gerais (Protocolo 101/07; Anexo1).

2.2. Animais

Foram utilizados ratos adultos (*ratus norvegicus*) da linhagem Wistar, com massa corporal de 210 – 240 g no período de realização da primeira cirurgia, fornecidos pelo Centro de Bioterismo do Instituto de Ciências Biológicas (CEBIO) da Universidade Federal de Minas Gerais.

Os ratos foram mantidos em caixas coletivas com no máximo 4 animais por caixa. Após a cirurgia de implante de cânula crônica no ventrículo cerebral lateral direito, os animais foram mantidos em gaiolas individuais para garantir a manutenção das cânulas guias cerebrais.

Os ratos foram mantidos em uma sala com temperatura ambiente seca de $24,3 \pm 0,3$ °C, sob um ciclo de claro - escuro de 14 - 10 h (luzes acesas às 5:00 h), com livre acesso a ração granulada (Nuvilab) e água.

2.3. Procedimentos Cirúrgicos

Adrenodemedulação bilateral.

Os ratos foram pesados e anestesiados com 2,2,2, tribromoetanol 2,5 % dissolvido em salina (0,25 g/Kg de massa corporal) intraperitonealmente. Foi feita a depilação, assepsia e incisão na região dorsal do rato sobre a coluna vertebral, abaixo das costelas. O músculo foi perfurado lateralmente à incisão e aberto na direção das fibras. Após este procedimento, o rim foi visualizado e a adrenal foi exteriorizada. Foi realizado um pequeno corte no córtex da adrenal e, por compressão a medula da adrenal foi retirada (Zarrow et al, 1964). A glândula foi colocada de volta no seu lugar e o músculo foi suturado. Foi utilizado o procedimento acima descrito para a retirada da outra medula da outra adrenal. Em seguida, a pele foi suturada. Em seguida, os ratos receberam uma dose (0,1 mL em cada pata traseira) intramuscular de antibiótico (Pentabiótico Veterinário para animais de Pequeno Porte - FORT DODGE® Saúde Animal Ltda) e uma dose subcutânea de analgésico (0,1 mL) (Banamine Injetável, 1,1 mg/Kg de peso corporal).

Foi dado um período de 15 dias de recuperação desta cirurgia para regeneração do córtex das adrenais, sendo que, os animais tiveram por volta de 4 semanas de recuperação até o período de experimento (Holzwarth et al, 1980). Os ratos também tiveram acesso à NaCl (0,15 M) durante este período para manter o equilíbrio hidroeletrolítico até que o córtex adrenal que foi lesionado na adrenodemedulação se regenere.

O grupo sham foi submetido a um procedimento cirúrgico fictício, isto é, não houve incisão no córtex da glândula adrenal. Dessa forma, foi garantido que os animais foram submetidos à mesma condição de estresse cirúrgico.

Implante de cânula crônica no ventrículo cerebral lateral direito.

Os ratos foram pesados e anestesiados com pentobarbital sódico (50 mg/Kg de massa corporal). Foi feita a depilação e assepsia da parte superior da cabeça. Após este procedimento foi realizada uma incisão longitudinal no local e no tecido subcutâneo, bem como o afastamento do periósteo, com o auxílio de xilocaína com vasoconstritor (solução de cloridrato de lidocaína 2 % e de adrenalina 1:200000). O rato foi fixado ao estereotáxico (Insight Equipamentos – modelo ETX3/99, SP, Brasil). A cânula guia de 22 G e 16 mm de aço inoxidável foi colocada sobre o bregma e foi deslocada de acordo com as coordenadas do Atlas de De Groot (1959) (1,5 mm posterior ao bregma, 2,5 mm lateral à linha média e 3,0 mm de profundidade em relação à superfície cranial). A craniotomia foi realizada com o auxílio de uma broca odontológica, foram realizados 3 orifícios na calota craniana, um para o implante da cânula guia e dois para a fixação de parafusos de relojoeiro que ajudaram na fixação do cimento odontológico. A cânula foi novamente posicionada de acordo com as coordenadas determinadas e foi implantada no ventrículo lateral. O posicionamento correto da cânula foi verificado pela variação da coluna líquida de salina (NaCl 0,9 %) do manômetro conectado à cânula guia por meio de um tubo de polietileno (PE50) (ANTUNES-RODRIGUES e McCANN, 1970). Após estes procedimentos, a cânula foi fixada na calota craniana por meio de cimento odontológico autopolimerizável (Dental Vip, SP, Brasil).

Para evitar obstrução da cânula, ela foi protegida com um mandril feito de tubo de polietileno (PE50) e fio de nylon.

Após a cirurgia os ratos receberam as mesmas doses de antibiótico e de analgésico aplicados anteriormente.

Os animais tiveram um período de recuperação de 4 dias após a cirurgia ou o tempo necessário para retornarem ao peso pré – cirúrgico.

A cânula foi utilizada como guia para a injeção intracerebroventricular das drogas.

Implante de cateter na artéria aorta abdominal via artéria carótida esquerda.

O cateter utilizado foi confeccionado com tubos de polietileno de diâmetros (PE50 e PE10) e comprimentos diferentes (9 e 4 cm), soldados por aquecimento. Para evitar obstrução, o cateter foi preenchido com salina heparinizada (0,1 mL de heparina sódica 25000UI, Liquemine®, Roche, RJ, Brasil dissolvida em 20 mL de salina 0,9 %) e a extremidade exposta foi ocluída com um pino de aço.

Os ratos foram pesados e anestesiados intraperitonealmente com 2,2,2, tribromoetanol 2,5 % (0,25 g/Kg de peso corporal). Foi feita a depilação e assepsia do pescoço e incisão longitudinal no local com comprimento de aproximadamente 1 cm. O tecido adiposo foi afastado e o músculo esternocleidomastóideo foi rebatido, possibilitando o acesso à artéria carótida esquerda. A artéria foi exposta e isolada dos tecidos adjacentes. Uma linha de sutura foi amarrada ao redor da carótida na parte exposta e um clip foi fixado abaixo da linha. Foi feita uma incisão na artéria e o cateter foi inserido na aorta descendente (4 cm a partir da incisão). Uma segunda linha de sutura foi amarrada ao redor da artéria e do cateter, imediatamente abaixo

da incisão e a linha de sutura acima da incisão foi amarrada ao redor do cateter fixando-o a artéria.

Após a depilação e assepsia da região cervical dorsal do animal, um pequeno corte foi realizado no local. Por meio de um trocater, o cateter foi passado subcutâneamente e exteriorizado na região cervical e fixado à pele do animal. O cateter foi lavado e preenchido diariamente com solução de heparina (0,1 mL de heparina sódica 25000UI, Liquemine®, Roche, RJ, Brasil dissolvida em 20mL de salina 0,9 %).

O implante de cateter na carótida esquerda foi utilizado para o registro da pressão arterial pulsátil.

Implante de sensor de temperatura na cavidade peritoneal.

Imediatamente após o implante do cateter arterial, foi realizado o implante do sensor de temperatura na cavidade peritoneal.

Foi feita a depilação e assepsia da região intraperitoneal e após este procedimento, foi realizada sobre a linha peritoneal uma incisão longitudinal de aproximadamente 2 cm. Um novo corte foi realizado na linha alba do músculo reto abdominal com menor comprimento, o que possibilitou o acesso à cavidade peritoneal. O sensor (Mini-Mitter, Sunriver, OR USA, série 3000 VM - FH, massa de 2,2 g) foi inserido na cavidade peritoneal. O músculo e a pele foram suturados. Os animais receberam as mesmas doses de antibiótico e de analgésico aplicados após a primeira cirurgia, isto é, adrenodemedulação bilateral.

Os animais tiveram um período de recuperação de 48 h para as duas últimas cirurgias.

O sensor de temperatura foi implantado para o registro da temperatura intraperitoneal que foi realizado por telemetria.

2.4. Parâmetros medidos

2.4.1. Temperatura ambiente seca (T_{as}) e úmida (T_{au}).

As temperaturas ambientes seca e úmida foram registradas a cada 5 minutos, durante todo o experimento, por meio de um psicrômetro (Incotherm) constituído de dois termômetros de mercúrio, graduados em graus Celsius ($^{\circ}\text{C}$). Um termômetro registrou a temperatura de bulbo seco e o outro, cuja extremidade inferior estava envolvida por uma gaze embebida com água destilada, registrou a temperatura de bulbo úmido.

2.4.2. Temperatura ambiente dentro da esteira de rato ($T_{esteira}$).

A temperatura seca dentro da esteira de rato foi registrada a cada minuto durante todo o experimento. A temperatura foi registrada utilizando-se um termossensor (Yellow Springs Instruments – YSI – série 400) posicionado na parte superior da esteira, sobre a grade do choque, e acoplado a um teletermômetro de temperatura (YSI, modelo Precision, série 4000A, USA) com precisão de $0,02^{\circ}\text{C}$.

2.4.3. Temperatura da pele da cauda.

A temperatura da pele da cauda do rato foi registrada a cada 30 segundos por meio de um termossensor de pele (YSI – série 400), conectado a um teletermômetro

digital (YSI, modelo Precision, série 4000A, USA) com precisão de 0,02 °C. O termossensor foi fixado na porção lateral a 2,5 cm da base da cauda (YOUNG e DAWSON, 1982), por meio de esparadrapo impermeável.

2.4.4. Temperatura intraperitoneal.

Para registro da temperatura intraperitoneal foram utilizados sensores de temperatura (Mini-Mitter, Sunriver, OR, modelo TR3000 VM – FM, peso de 2,2 g), contendo uma bateria de lítio (3- V lithium).

O sensor de temperatura é um capacitor oscilatório de resistência simples em que o valor da resistência é dependente da temperatura. A frequência de saída dos pulsos digitais provenientes dos sensores está entre 297 – 713 KHz. Os pulsos foram captados por uma placa receptora AM (modelo RA 1000 TH, Mini Mitter Co.) posicionada na parte lateral da esteira, sendo enviados na seqüência para um decodificador. Este repassou as informações para um software (Vital View, Mini – Mitter) que armazenou os dados.

O registro da temperatura intraperitoneal foi realizado a cada 15 segundos.

A temperatura intraperitoneal foi considerada uma medida da temperatura corporal interna.

2.4.5. Pressão arterial pulsátil.

A pressão arterial pulsátil, durante o experimento, foi continuamente medida por meio do cateter implantado na aorta. O cateter foi conectado a um sistema de transdução de dados (MP100 System Guide, BIOPAC Systems, Inc.) por meio de

uma extensão feita com tubo de polietileno PE50 preenchido com salina heparinizada (0,1 mL de heparina sódica 25000 UI em 20 mL de salina 0,9 %). O transdutor foi calibrado previamente à realização dos experimentos e foi posicionado ao lado da esteira, aproximadamente à altura do coração do rato . Os sinais do transdutor foram enviados para um amplificador e deste para um “software” onde os dados foram armazenados. As variáveis cardiovasculares – frequência cardíaca e pressões arteriais média, sistólica e diastólica – foram calculadas a partir do registro da pressão arterial pulsátil via “software” (Acknowledge 37.0).

2.4.6. Tempo total de exercício.

O tempo total de exercício, medido em minutos, correspondeu ao intervalo entre o início do exercício e o momento em que os animais entraram em fadiga. A medida foi realizada por um cronômetro com precisão de 0,01 segundos. A fadiga foi determinada pela permanência do animal sobre a grade de estímulo elétrico (0,5 mV e 0,5 mA) durante 10 segundos, o que demonstrou a incapacidade de manter a intensidade de exercício pré estabelecida (LIMA et al 1998; LIMA et al 2001).

2.5. Familiarização ao exercício na esteira rolante.

Após a recuperação da cirurgia de implante da cânula guia no ventrículo cerebral lateral direito, os animais foram familiarizados ao exercício na esteira rolante para pequenos animais a uma velocidade constante de 18 m/min com 5 % de inclinação e sob um estímulo elétrico de 5 mA (Treadmill Simplex II, Columbus Instruments, EUA). Esta intensidade de exercício corresponde à aproximadamente

67 % do VO_{2max} (LIMA, 2000). O período de adaptação teve duração de 5 dias consecutivos sendo 10 minutos por dia, 5 minutos de repouso e 5 minutos de corrida.

2.6. Injeção no ventrículo cerebral lateral direito.

A injeção de 2 μ L de solução de fisostigmina (5×10^{-3} M) (Sigma, St. Louis, EUA) ou de NaCl (0,15 M) foi realizada usando-se uma microseringa (Hamilton Company, Nevada, EUA) de 5 μ L que foi conectada por uma extensão de PE10 a uma agulha injetora. Esta foi confeccionada cortando uma agulha longa de anestesia odontológica (30 G) no comprimento de 16,3 mm, isto é, 0,3 mm maior que a cânula guia, garantindo assim que o líquido não ficasse retido na mesma. Foram utilizadas agulhas injetoras distintas para as injeções de salina ou de fisostigmina. A injeção teve duração de 1 minuto para evitar o aumento da pressão hidrostática no ventrículo cerebral lateral direito.

2.7. Grupos Experimentais.

A **figura 2** apresenta o esquema demonstrativo das 8 situações experimentais utilizadas nos experimentos. Para este experimento foram utilizados 4 grupos de animais, sendo 2 situações experimentais para cada grupo e foram utilizados no mínimo 6 ratos para cada grupo:

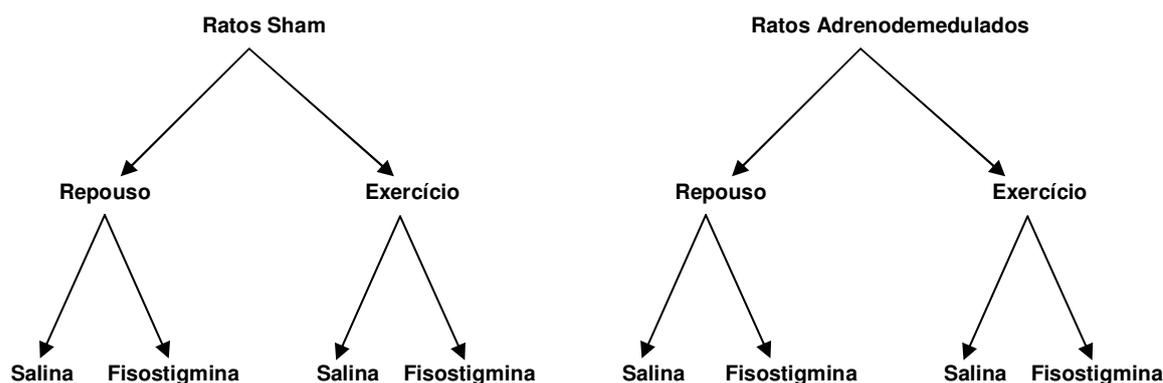


Figura 2. Esquema demonstrativo das oito situações experimentais que foram analisadas neste estudo.

2.8. Delineamento Experimental.

A **figura 3** apresenta o delineamento experimental executado. Os ratos foram submetidos à cirurgia de adrenodemedulação bilateral ou sham (dia 0) e, após 15 dias de recuperação foram submetidos ao implante de cânula crônica no ventrículo cerebral lateral direito (dia 15). Após 4 dias de recuperação os ratos foram adaptados ao exercício em esteira rolante (dias 20, 21, 22, 23 e 24). O implante de cateter na aorta abdominal via artéria carótida esquerda e o implante do sensor de temperatura na cavidade peritoneal foram realizados no 24^o dia e os experimentos foram realizados nos dias 26 e 28.

Cada animal foi submetido a duas situações experimentais (injeção intracerebroventricular de salina ou de fisostigmina) de maneira aleatória, seja em repouso ou em exercício, tanto para o animal adrenodemedulado ou para sham. Foi dado intervalo de 48 h entre os dois experimentos.

Os experimentos foram realizados no período da manhã e em ambiente de aproximadamente 24,7 °C de temperatura ambiente seca e 50 – 60 % de umidade relativa do ar.

Após os experimentos, o rato foi sacrificado com dose letal de pentobarbital sódico (100 mg/Kg de massa corporal). Após sacrificio, as adrenais foram removidas e seccionadas para comprovar a ausência das medulas.

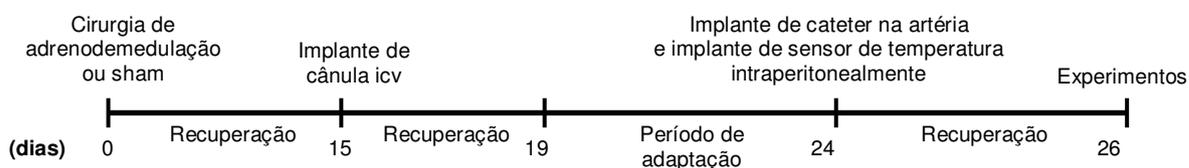


Figura 3. Delineamento experimental.

2.8.1. Experimento.

Os mesmos procedimentos experimentais foram realizados durante os dois tratamentos: salina ou fisostigmina.

No dia do experimento, foi medida a massa corporal do animal e em seguida, o rato foi levado para a sala de experimentos, o termossensor foi fixado à pele da cauda e a cânula arterial foi conectada ao transdutor de pressão.

O animal permaneceu em repouso em uma caixa de acrílico por 60 minutos, e nos últimos 20 minutos foram registradas as temperaturas e a pressão arterial com o objetivo de determinar os valores basais. A injeção foi realizada durante um 1 minuto e a cânula injetora permaneceu conectada por um minuto adicional. No minuto -1, a injetora foi desconectada da cânula guia e o rato foi colocado na esteira rolante para que no minuto 0 o exercício (ou um novo repouso) fosse realizado.

O exercício foi realizado na velocidade de 24 m/min e 5 % de inclinação até a fadiga. Esta intensidade corresponde à aproximadamente 80 % do VO_{2max} (Lima et al., 2000), exercício de intensidade moderada (**Figura 4**).

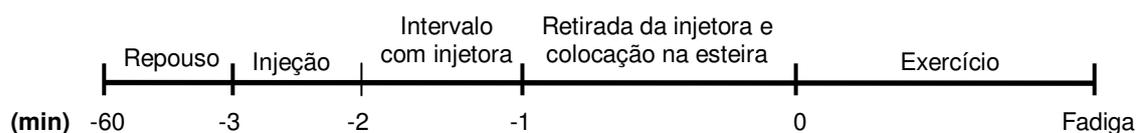


Figura 4. Procedimento experimental dos ratos submetidos ao exercício.

Durante a situação de repouso, o rato permaneceu dentro da esteira por mais 60 minutos (**Figura 5**).

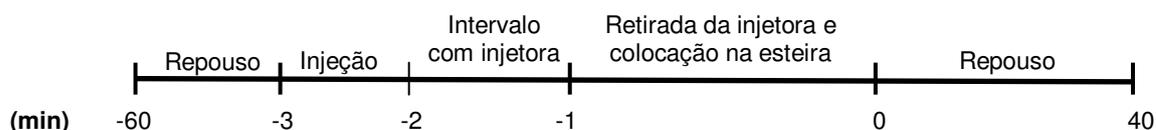


Figura 5. Procedimento experimental dos ratos em repouso.

2.9. Análise Estatística.

Os dados foram expressos em média \pm erro padrão da média (EPM).

Para a análise das variáveis termorregulatórias (temperatura interna e a da cauda) e cardiovasculares (pressões arteriais média, sistólica, diastólica e da frequência cardíaca) foi utilizada a ANOVA com parcelas sub-divididas. Quando foi verificado a diferença na variância entre os experimentos, os dados foram submetidos ao teste de post hoc das diferenças mínimas significativas. O tempo total de exercício e as áreas sob a curva – método trapezoidal, foram analisadas pela ANOVA two-way, seguido do teste de post hoc Student–Newman Keuls. O nível de significância adotado foi $p \leq 0,05$.

3.1. Tempo total de exercício.

A **figura 6** representa o tempo total de exercício de ratos sham ou adrenodemedulados submetidos ao exercício físico até a fadiga a 24 m/min^{-1} e 5% de inclinação da esteira ($\sim 80\%$ do $\text{VO}_{2\text{max}}$) e num ambiente a $24,7^\circ\text{C}$ e $\sim 60\%$ de umidade relativa do ar. Podemos observar que não houve diferença entre os grupos ou entre os tratamentos ($18,2 \pm 1,3 \text{ min}$ SHAM-EX-SAL; $17,3 \pm 1,2 \text{ min}$ SHAM-EX-FIS; $16,4 \pm 0,8 \text{ min}$ ADM-EX-SAL e $18,3 \pm 1,9 \text{ min}$ ADM-EX-FIS).

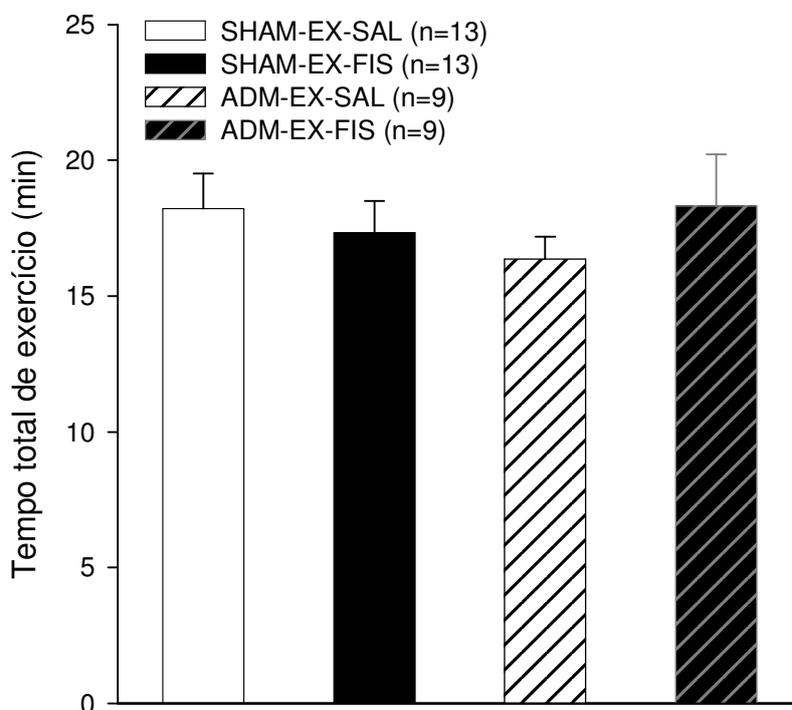


Figura 6. Efeito da injeção intracerebroventricular de NaCl ($0,15 \text{ M}$) ou de fisostigmina ($5 \times 10^{-3} \text{ M}$) no tempo total de exercício (24 m/min e 5% de inclinação da esteira; $\sim 80\%$ do $\text{VO}_{2\text{max}}$) na temperatura ambiente de $24,7 \pm 0,1 \text{ }^\circ\text{C}$ em ratos sham e adrenodemedulados. Os dados expressam média \pm EPM.

3.2. Parâmetros cardiovasculares.

A **tabela 1** mostra, que os valores basais da pressão arterial média, sistólica e diastólica e frequência cardíaca, no grupo sham mantido em repouso, não foram diferentes entre os tratamentos.

Tabela 1. Valores basais da pressão arterial média, sistólica, diastólica e frequência cardíaca, do grupo sham mantido em repouso.

	Pressão arterial média (mmHg)	Frequência cardíaca (bpm)	Pressão arterial sistólica (mmHg)	Pressão arterial diastólica (mmHg)
SHAM-REP-SAL (n=10)	108,6 ± 2,9	348,2 ± 11,7	122,0 ± 1,6	94,0 ± 3,3
SHAM-REP-FIS (n=10)	104,5 ± 3,6	343,7 ± 9,8	117,1 ± 1,9	92,2 ± 4,5

Os dados expressam média ± EPM.

As curvas de evolução do registro das variáveis cardiovasculares durante o repouso mostram as alterações registradas a cada 2 minutos do período experimental.

A **figura 7** representa a pressão arterial média, sistólica, diastólica e frequência cardíaca, em ratos sham durante o repouso e num ambiente a 24,7°C e ~60% de umidade relativa do ar. A variação da pressão arterial média aumentou com a injeção de salina ($7,0 \pm 2,4$ mmHg no min 2, $p \leq 0,05$) e com a injeção de fisostigmina ($17,7 \pm 2,4$ mmHg no min 2, $p \leq 0,05$) em relação ao início do exercício.

A variação da pressão arterial média foi maior na situação fisostigmina em relação à salina.

A variação da pressão arterial sistólica no grupo sham em repouso aumentou com a injeção de salina ($5,1 \pm 3,1$ mmHg ao 2; $p \leq 0,05$) e com a injeção de fisostigmina ($18,1 \pm 1,5$ mmHg ao 2 min; $p \leq 0,05$) em relação ao início do exercício. A variação da pressão arterial sistólica foi maior na situação fisostigmina em relação à salina.

A variação da pressão arterial diastólica no grupo sham em repouso aumentou com a injeção de salina ($8,1 \pm 2,3$ mmHg ao 2 min; $p \leq 0,05$) e com a injeção de fisostigmina ($19,4 \pm 4,0$ mmHg ao 2 min; $p \leq 0,05$) em relação ao início do exercício. A variação da pressão arterial diastólica foi maior na situação fisostigmina em relação à salina.

A variação da frequência cardíaca no grupo sham em repouso aumentou com a injeção de salina ($38,3 \pm 14,4$ bpm ao 1 min vs $0,0 \pm 0,0$ bpm aos 0 min; $p \leq 0,05$) e com a injeção de fisostigmina ($41,0 \pm 9,4$ bpm ao 1 min vs $0,0 \pm 0,0$ bpm aos 0 min; $p \leq 0,05$) em relação ao início do exercício. A variação da frequência cardíaca não foi diferente entre os tratamentos.

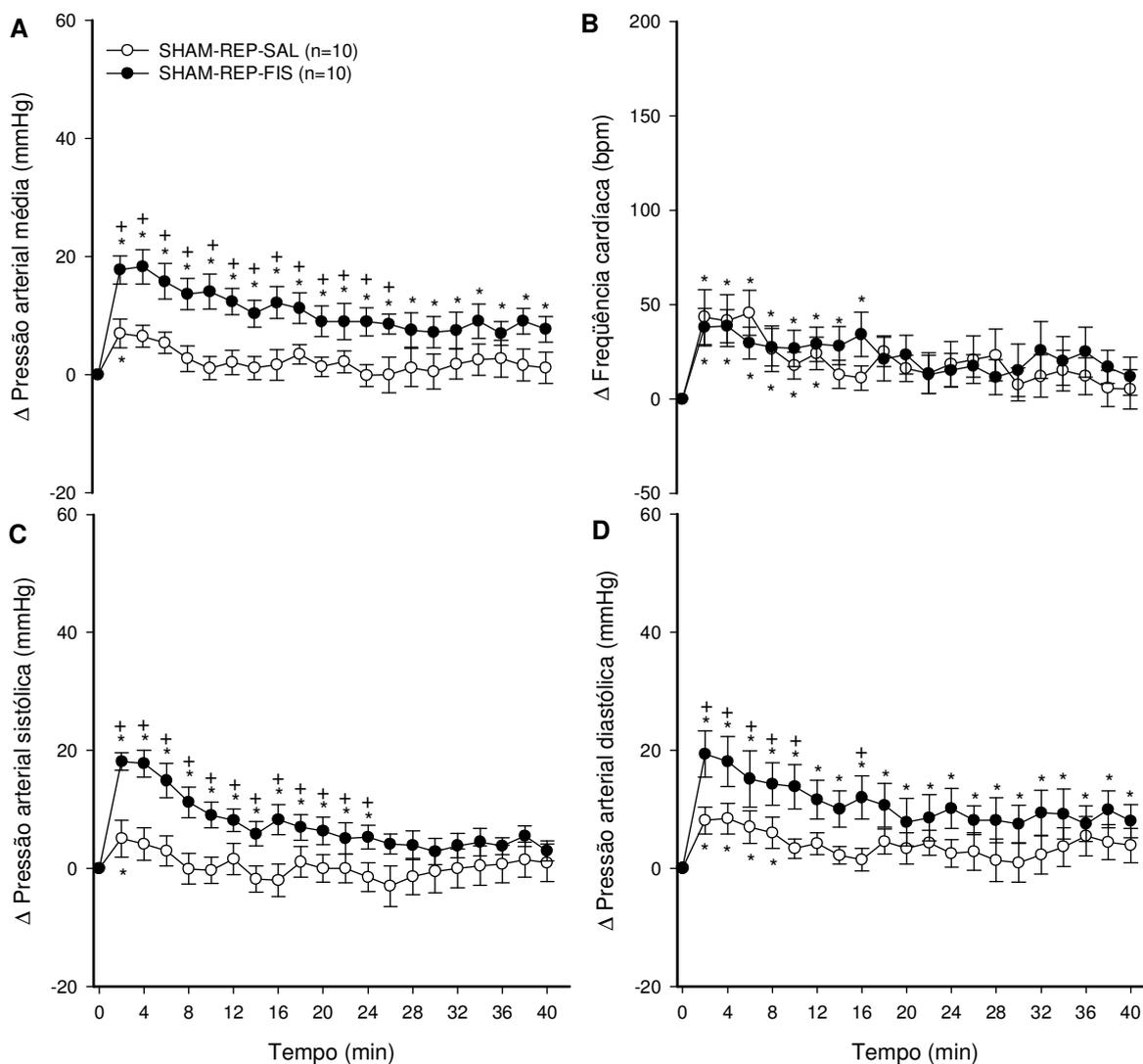


Figura 7. Efeito da injeção intracerebroventricular de NaCl (0,15 M) ou de fisostigmina (5×10^{-3} M) na variação da pressão arterial média (A), freqüência cardíaca (B), pressão arterial sistólica (C) e pressão arterial diastólica (D) em ratos sham no repouso com temperatura ambiente de $24,7 \pm 0,1$ °C. Os dados expressam média \pm EPM. * $p \leq 0,05$ em comparação ao minuto zero. + $p \leq 0,05$ em comparação ao tratamento de salina.

A **tabela 2** mostra, que os valores basais da pressão arterial média, sistólica e diastólica e frequência cardíaca, no grupo adrenodemedulado mantido em repouso, não foram diferentes entre os tratamentos.

Tabela 2. Valores basais da pressão arterial média, sistólica, diastólica e frequência cardíaca, do grupo adrenodemedulado mantido em repouso.

	Pressão arterial média (mmHg)	Frequência cardíaca (bpm)	Pressão arterial sistólica (mmHg)	Pressão arterial diastólica (mmHg)
ADM-REP-SAL (n=8)	124,4 ± 5,4	319,8 ± 7,9	133,5 ± 6,1	106,6 ± 5,5
ADM-REP-FIS (n=8)	126,6 ± 6,2	314,3 ± 16,4	135,3 ± 3,6	110,5 ± 6,6

Os dados expressam média ± EPM.

A **figura 8** representa a pressão arterial média, sistólica, diastólica e frequência cardíaca, em ratos adrenodemedulados durante o repouso e num ambiente a 24,7°C e ~60% de umidade relativa do ar. A variação da pressão arterial média aumentou com a injeção de salina (6,5 ± 4,1 mmHg ao 2 min; $p \leq 0,05$) e com a injeção de fisostigmina (11,4 ± 2,9 mmHg ao 2 min; $p \leq 0,05$) em relação ao início do exercício. A variação da pressão arterial média não foi diferente entre os tratamentos.

A variação da pressão arterial sistólica no grupo adrenodemedulado em repouso aumentou com a injeção de salina (6,7 ± 3,8 mmHg ao 6 min; $p \leq 0,05$) e com a injeção de fisostigmina (14,9 ± 3,2 mmHg ao 2 min; $p \leq 0,05$) em relação ao início do exercício. A variação da pressão arterial sistólica não foi diferente entre os tratamentos.

A variação da pressão arterial diastólica no grupo adrenodemedulado em repouso aumentou com a injeção de salina ($11,4 \pm 3,9$ mmHg ao 2 min; $p \leq 0,05$) e com a injeção de fisostigmina ($15,0 \pm 2,7$ mmHg ao 2 min; $p \leq 0,05$) em relação ao início do exercício. A variação da pressão arterial diastólica não foi diferente entre os tratamentos.

A variação da frequência cardíaca no grupo adrenodemedulado em repouso aumentou com a injeção de salina ($42,4 \pm 15,3$ bpm ao 2 min; $p \leq 0,05$) e com a injeção de fisostigmina ($34,7 \pm 12,0$ bpm ao 2 min vs; $p \leq 0,05$) em relação ao início do exercício. A variação da frequência cardíaca não foi diferente entre os tratamentos.

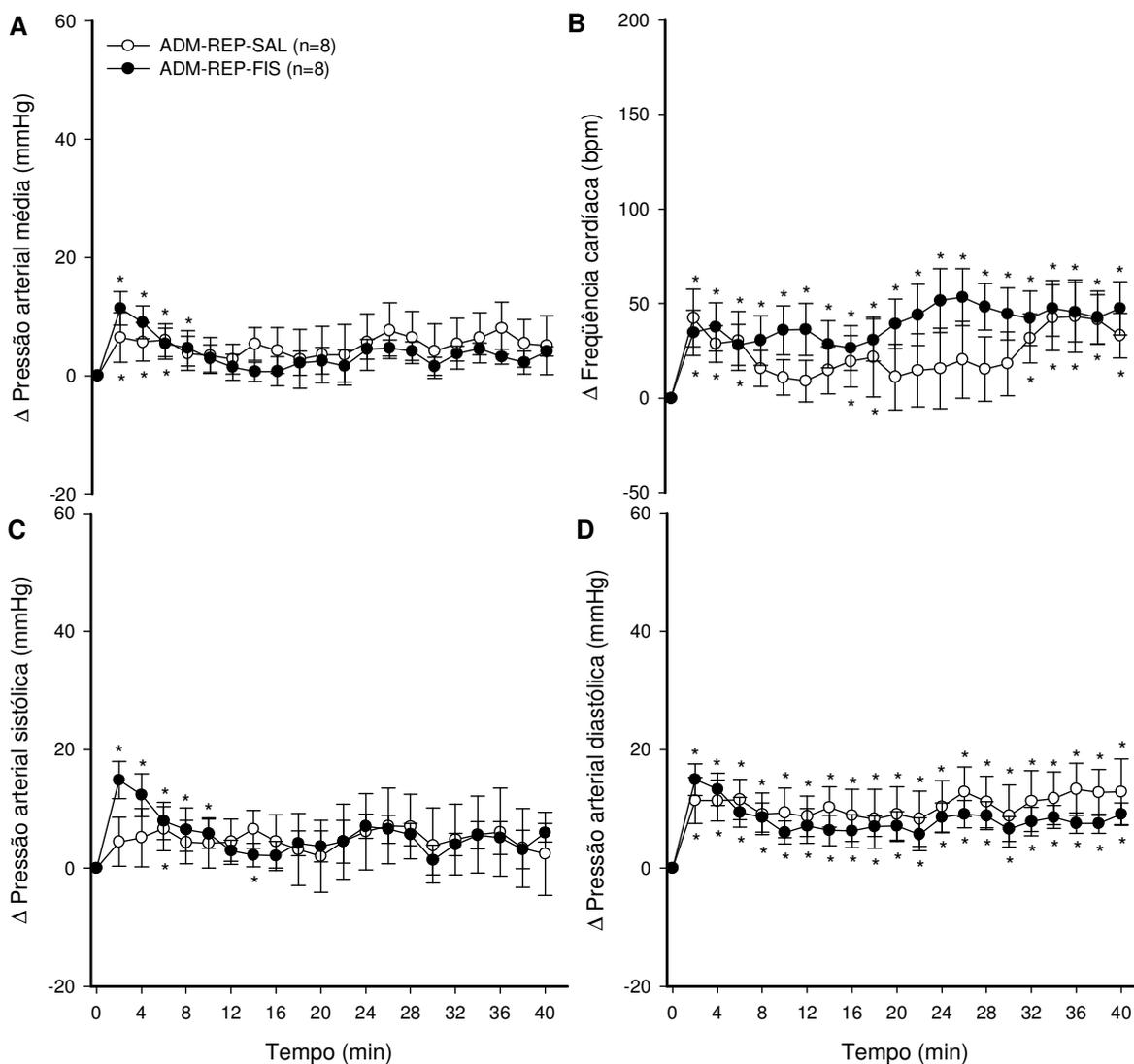


Figura 8. Efeito da injeção intracerebroventricular de NaCl (0,15 M) ou de fisostigmina (5×10^{-3} M) na variação da pressão arterial média (A), frequência cardíaca (B), pressão arterial sistólica (C) e pressão arterial diastólica (D) em ratos adrenalectomizados no repouso com temperatura ambiente de $24,7 \pm 0,1$ °C. Os dados expressam média \pm EPM. * $p \leq 0,05$ em comparação ao minuto zero.

A **figura 9** representa as áreas integradas de 40 minutos da curva da variação da pressão arterial média, sistólica, diastólica e frequência cardíaca em ratos sham ou adrenodemedulados durante o repouso (figuras 6 e 7) num ambiente a 24,7°C e ~60% de umidade relativa do ar. A área sob a curva da variação da pressão arterial média foi maior no grupo SHAM-REP-FIS em relação aos SHAM-REP-SAL ($433,38 \pm 84,54$ mmHg . min após fisostigmina vs $119,71 \pm 65,43$ mmHg . min após salina; $p \leq 0,05$), porém não houve diferença entre os animais ADM-REP-FIS em relação aos ADM-REP-SAL.

A área sob a curva da variação da pressão arterial média no grupo ADM-REP-SAL não foi diferente da situação SHAM-REP-SAL, mas a situação ADM-REP-FIS foi menor em relação à situação SHAM-REP-FIS ($153,28 \pm 58,85$ mmHg . min ADM-REP-FIS vs $433,38 \pm 84,54$ mmHg . min SHAM-REP-FIS; $p \leq 0,05$)

A área sob a curva da pressão arterial sistólica foi maior nos animais SHAM-REP-FIS em relação aos SHAM-REP-SAL ($278,35 \pm 63,51$ mmHg . min SHAM-REP-FIS vs $13,93 \pm 89,08$ mmHg . min SHAM-REP-SAL; $p \leq 0,05$), porém não se observou diferença entre os ADM-REP-FIS e os ADM-REP-SAL.

A área sob a curva da variação da pressão arterial sistólica do grupo ADM-REP-SAL não foi diferente do SHAM-REP-SAL e a situação ADM-REP-FIS não foi diferente em relação à situação SHAM-REP-FIS.

A área sob a curva da variação da pressão arterial diastólica foi maior em SHAM-REP-FIS em relação aos SHAM-REP-SAL ($432,94 \pm 94,30$ mmHg . min SHAM-REP-FIS vs $154,34 \pm 82,48$ mmHg . min SHAM-REP-SAL; $p \leq 0,05$), porém não houve diferença entre os ADM-REP-FIS e ADM-REP-SAL.

A área sob a curva de variação da pressão arterial diastólica no grupo ADM-REP-SAL não foi diferente do SHAM-REP-SAL e o ADM-REP-FIS não foi diferente do SHAM-REP-FIS.

Em 40 minutos, a área integrada da curva de variação da frequência cardíaca mostra que não houve diferenças entre os grupos experimentais, assim como, entre os tratamentos estudados.

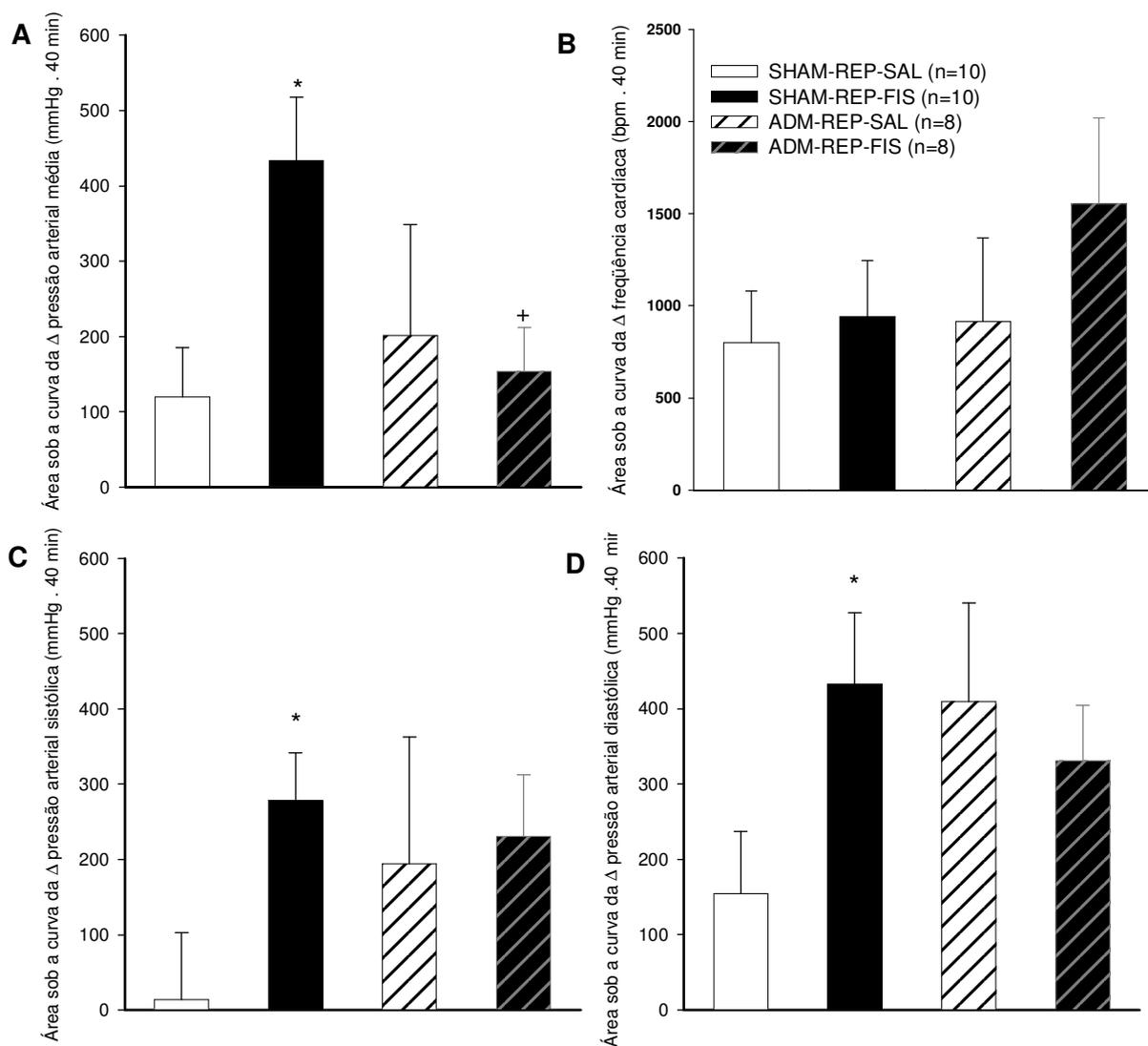


Figura 9. Efeito da injeção intracerebroventricular de NaCl (0,15 M) ou de fisostigmina (5×10^{-3} M) nas áreas integradas sob a curva da variação da pressão arterial média (A), frequência cardíaca (B), pressão arterial sistólica (C) e pressão arterial diastólica (D) em ratos sham ou adrenalectomizados no repouso com temperatura ambiente de $24,7 \pm 0,1$ °C. Os dados expressam média \pm EPM. * $p \leq 0,05$ em comparação ao salina. + $p \leq 0,05$ em comparação ao sham.

Os gráficos que representam a variação das pressões arterial média, da sistólica e da diastólica e da frequência cardíaca durante o exercício físico estão expressos até o minuto 13, pois, este foi o tempo total máximo em que todos os animais permaneceram em exercício e o valor médio da fadiga é representado por um ponto isolado.

A **tabela 3** mostra, que os valores basais da pressão arterial média, sistólica e diastólica e frequência cardíaca, no grupo sham submetido ao exercício físico, não foram diferentes entre os tratamentos.

Tabela 3. Valores basais da pressão arterial média, sistólica, diastólica e frequência cardíaca, do grupo sham submetido ao exercício físico.

	Pressão arterial média (mmHg)	Frequência cardíaca (bpm)	Pressão arterial sistólica (mmHg)	Pressão arterial diastólica (mmHg)
SHAM-EX-SAL (n=6)	116,4 ± 2,5	338,3 ± 18,3	124,6 ± 2,6	102,0 ± 3,3
SHAM-EX-FIS (n=6)	108,6 ± 4,9	340,6 ± 12,9	121,7 ± 4,5	98,6 ± 4,4

Os dados expressam média ± EPM.

A **figura 10** mostra, que no grupo sham submetido ao exercício físico, a variação da pressão arterial média aumentou tanto com o tratamento de salina (15,7 ± 4,7 mmHg no min 1; $p \leq 0,05$) quanto com a fisostigmina (31,4 ± 3,8 mmHg no min 1; $p \leq 0,05$). O aumento da variação da pressão arterial média foi maior no tratamento com fisostigmina em relação ao de salina.

A variação da pressão arterial sistólica no grupo sham submetido ao exercício físico aumentou tanto com o tratamento com salina intracerebroventricular (21,6 ± 3,8 mmHg no min 1; $p \leq 0,05$) quanto com fisostigmina intracerebroventricular (31,7

$\pm 2,6$ mmHg no min 1; $p \leq 0,05$). O aumento da pressão arterial sistólica foi maior no tratamento de fisostigmina em relação ao de salina.

A variação da pressão arterial diastólica no grupo sham submetido ao exercício físico aumentou tanto com o tratamento com salina intracerebroventricular ($16,2 \pm 4,0$ mmHg no min 1; $p \leq 0,05$) quanto com a fisostigmina ($23,7 \pm 4,3$ mmHg no min 1; $p \leq 0,05$). O aumento da pressão arterial diastólica não foi diferente entre os tratamentos.

A variação da frequência cardíaca no grupo sham submetido ao exercício físico aumentou desde o minuto 1 até o momento de fadiga tanto com o tratamento com salina ($130,9 \pm 16,6$ bpm no min 1; $p \leq 0,05$) quanto com fisostigmina ($123,0 \pm 15,5$ bpm no min 1; $p \leq 0,05$). Durante o exercício e no momento de fadiga o aumento da frequência cardíaca não foram diferentes entre os tratamentos.

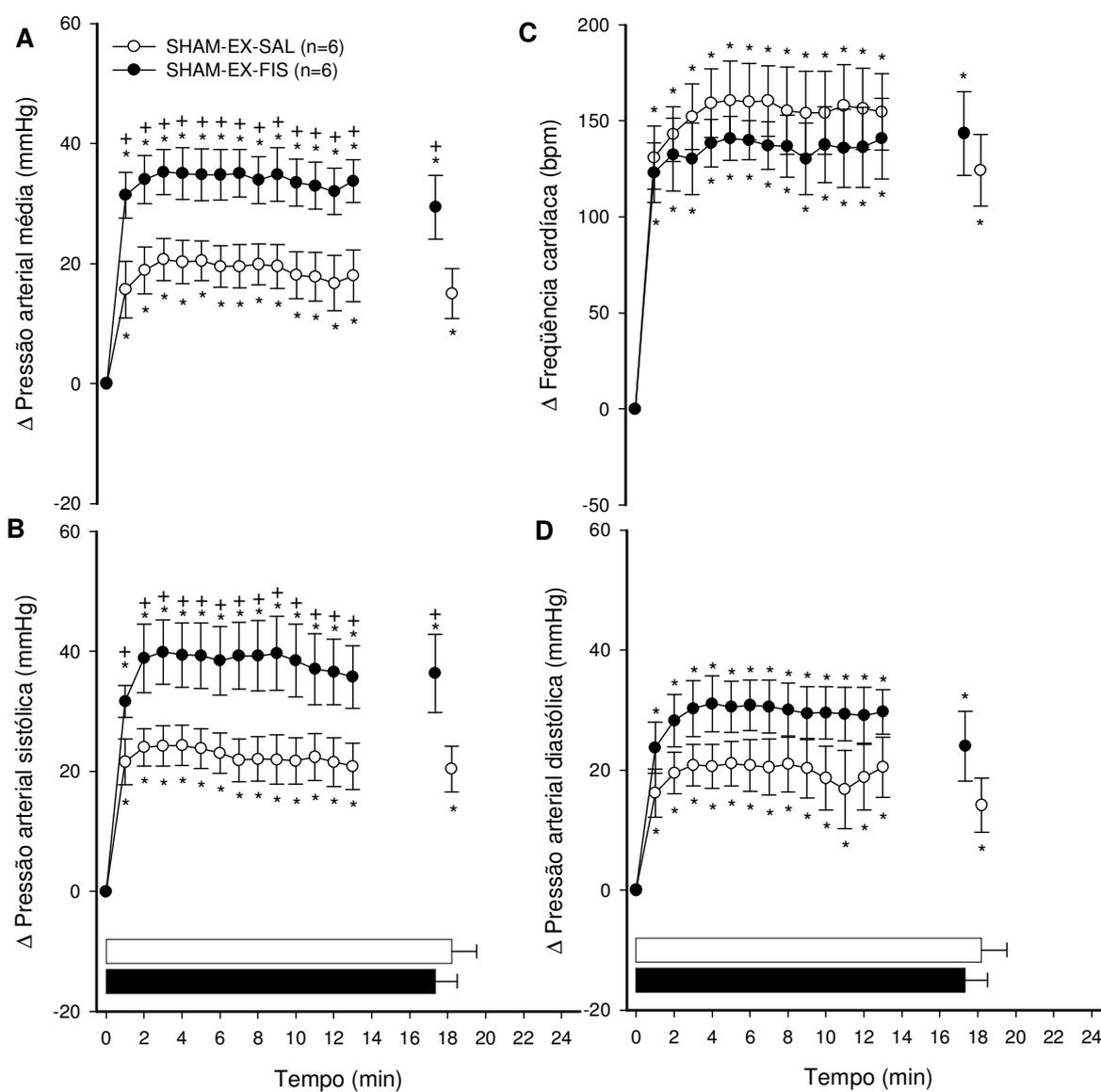


Figura 10. Efeito da injeção intracerebroventricular de NaCl (0,15 M) ou de fisostigmina (5×10^{-3} M) na variação da pressão arterial média (A), frequência cardíaca (B), pressão arterial sistólica (C) e pressão arterial diastólica (D) em ratos sham submetidos ao exercício (24 m/min e 5 % de inclinação da esteira; ~ 80 % do VO_{2max}) na temperatura ambiente de $24,7 \pm 0,1$ °C. As barras horizontais indicam o tempo total de exercício para cada tratamento. Os dados expressam média \pm EPM. * $p \leq 0,05$ em comparação ao minuto zero. + $p \leq 0,05$ em comparação ao tratamento de salina.

A **tabela 4** mostra, que os valores basais da pressão arterial média, sistólica e diastólica e frequência cardíaca, no grupo adrenodemedulado submetido ao exercício físico, não foram diferentes entre os tratamentos.

Tabela 4. Valores basais da pressão arterial média, sistólica, diastólica e frequência cardíaca, do grupo adrenodemedulado submetido ao exercício físico.

	Pressão arterial média (mmHg)	Frequência cardíaca (bpm)	Pressão arterial sistólica (mmHg)	Pressão arterial diastólica (mmHg)
ADM-EX-SAL (n=7)	122,9 ± 3,8	343,8 ± 6,7	131,4 ± 4,1	109,1 ± 4,3
ADM-EX-FIS (n=7)	115,8 ± 3,8	337,8 ± 9,4	125,5 ± 2,3	105,6 ± 1,6

Os dados expressam média ± EPM.

A **figura 11** mostra, que no grupo adrenodemedulado submetido ao exercício, a variação da pressão arterial média aumentou tanto com o tratamento com salina ($17,0 \pm 4,7$ mmHg no minuto 1; $p \leq 0,05$) quanto de fisostigmina ($30,1 \pm 4,0$ mmHg no minuto 1; $p \leq 0,05$). O aumento da pressão arterial média foi maior no tratamento com fisostigmina em relação ao de salina do primeiro minuto de exercício físico até o momento de fadiga.

A variação da pressão arterial sistólica no grupo adrenodemedulado submetido ao exercício aumentou tanto com o tratamento com salina ($20,6 \pm 4,5$ mmHg no minuto 1; $p \leq 0,05$) quanto com fisostigmina ($31,8 \pm 6,6$ mmHg no minuto 1; $p \leq 0,05$). O aumento da pressão arterial sistólica foi maior no tratamento de fisostigmina em relação ao de salina do primeiro minuto de exercício físico até o momento de fadiga.

A variação da pressão arterial diastólica no grupo adrenodemedulado submetido ao exercício físico aumentou tanto com o tratamento de salina ($16,2 \pm 6,9$ mmHg no minuto 1; $p \leq 0,05$) quanto de fisostigmina ($26,2 \pm 5,9$ mmHg no minuto 1; $p \leq 0,05$). O aumento da pressão arterial diastólica não foi diferente entre os tratamentos.

A variação da frequência cardíaca no grupo adrenodemedulado submetido ao exercício aumentou tanto com o tratamento com salina ($113,4 \pm 20,8$ bpm no minuto 1; $p \leq 0,05$) quanto de fisostigmina ($87,0 \pm 20,3$ bpm no minuto 1; $p \leq 0,05$). O aumento da frequência cardíaca foi menor no tratamento fisostigmina em relação à salina no momento de fadiga ($152,3 \pm 16,9$ bpm para salina vs $110,6 \pm 19,8$ bpm para fisostigmina no momento de fadiga; $p \leq 0,05$).

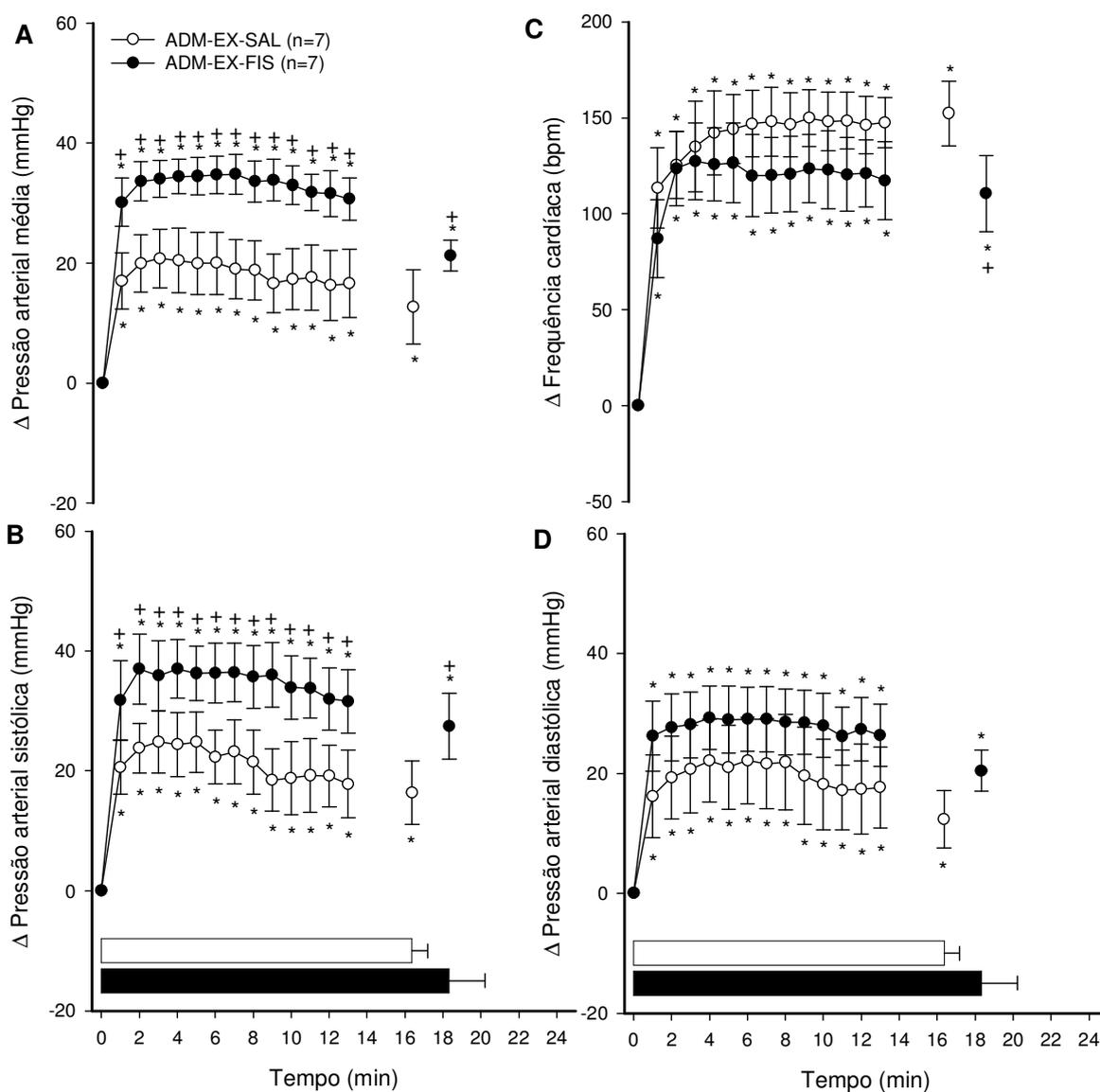


Figura 11. Efeito da injeção intracerebroventricular de NaCl (0,15 M) ou de fisostigmina (5×10^{-3} M) na variação da pressão arterial média (A), frequência cardíaca (B), pressão arterial sistólica (C) e pressão arterial diastólica (D) em ratos adrenodemedulados submetidos ao exercício (24 m/min e 5 % de inclinação da esteira; ~ 80 % do VO_{2max}) na temperatura ambiente de $24,7 \pm 0,1$ °C. As barras horizontais indicam o tempo total de exercício para cada tratamento. Os dados expressam média \pm EPM. * $p \leq 0,05$ em comparação ao minuto zero. + $p \leq 0,05$ em comparação ao tratamento de salina.

A **figura 12** mostra, as áreas integradas (13 minutos) sob a curva da variação da pressão arterial média dos grupos sham e adrenodemedulados durante o exercício físico (figuras 9 e 10). A área sob a curva da variação da pressão arterial média foi maior no SHAM-EX-FIS em relação ao SHAM-EX-SAL ($424,49 \pm 48,90$ mmHg . min vs $235,94 \pm 46,59$ mmHg . min; $p \leq 0,05$) e no ADM-EX-FIS em relação ao ADM-EX-SAL ($415,43 \pm 38,79$ mmHg . min vs $232,14 \pm 62,87$ mmHg . min; $p \leq 0,05$).

A área sob a curva da variação da pressão arterial média não foi diferente entre ADM-EX-SAL e SHAM-EX-SAL e não foi diferente entre ADM-EX-FIS e SHAM-EX-FIS.

A área integrada sob a curva da variação da frequência cardíaca não foi diferente entre os grupos ou entre os tratamentos.

A área integrada sob a curva da pressão arterial sistólica foi maior na situação SHAM-EX-FIS em relação à SHAM-EX-SAL ($475,66 \pm 66,73$ mmHg . min vs $283,08 \pm 43,74$ mmHg . min; $p \leq 0,05$) e na situação ADM-EX-FIS em relação à situação ADM-EX-SAL ($437,84 \pm 64,57$ mmHg . min vs $269,98 \pm 62,72$ mmHg . min; $p \leq 0,05$).

A área integrada sob a curva da variação da pressão arterial sistólica dos animais não foi diferente entre os grupos ou entre os tratamentos.

A área integrada sob a curva da pressão arterial diastólica não foi diferente entre nenhuma das situações ou tratamentos.

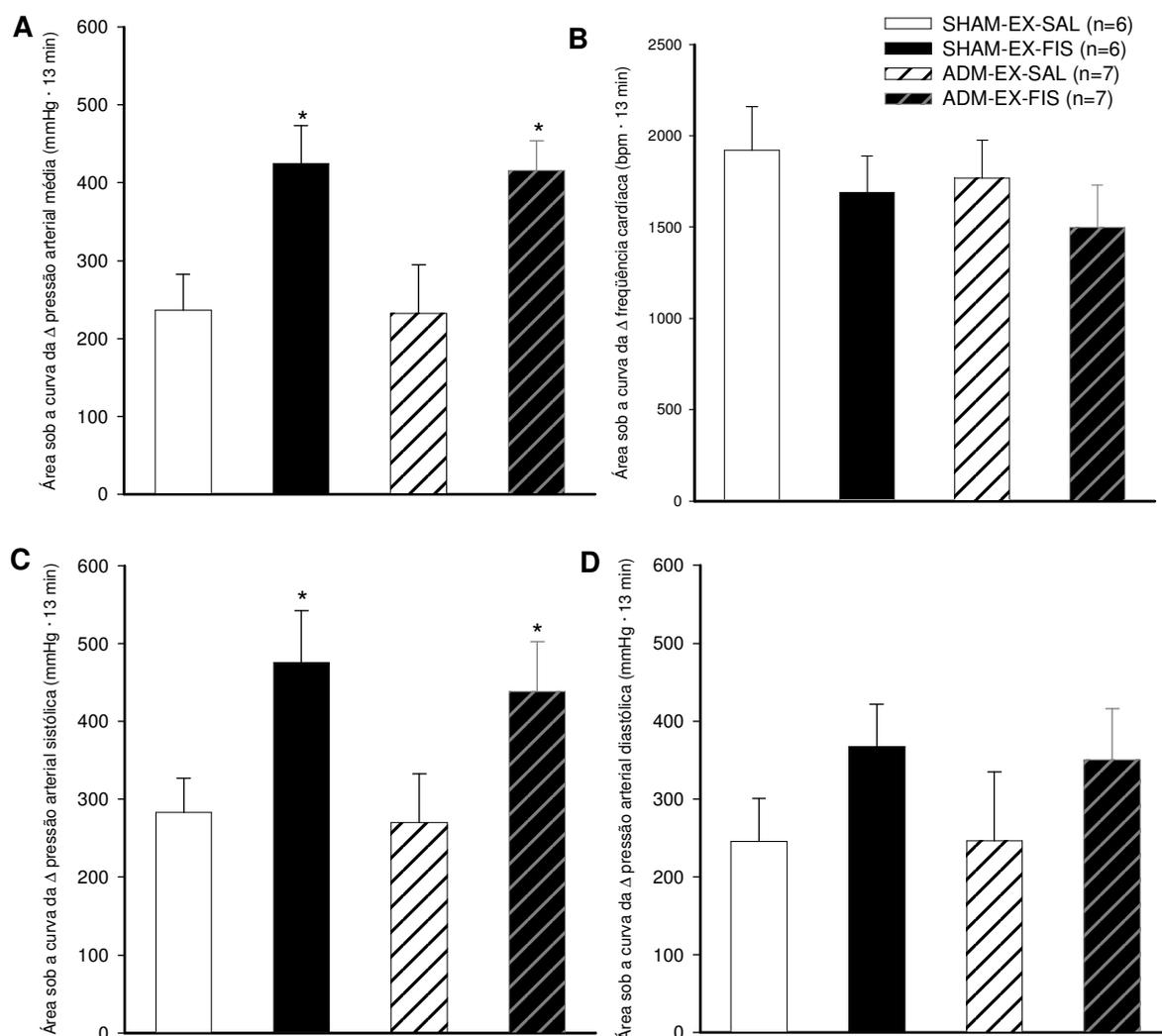


Figura 12. Efeito da injeção intracerebroventricular de NaCl (0,15 M) ou de fisostigmina (5×10^{-3} M) nas áreas integradas sob a curva da variação da pressão arterial média (A), frequência cardíaca (B), pressão arterial sistólica (C) e pressão arterial diastólica (D) em ratos sham ou adrenalectomizados submetidos ao exercício (24 m/min e 5 % de inclinação da esteira; ~80 % do VO_{2max}) na temperatura ambiente de $24,7 \pm 0,1$ °C. Os dados expressam média \pm EPM. * $p \leq 0,05$ em comparação ao salina.

3.3. Temperatura da pele da cauda.

A **tabela 5** mostra, que os valores basais da temperatura da pele da cauda, nos grupos sham e adrenodemedulado mantidos em repouso, não foram diferentes entre os tratamentos e grupos.

Tabela 5. Valores basais da temperatura da pele da cauda, dos grupos sham e adrenodemedulado mantidos em repouso.

	SHAM-REP-SAL (n=13)	SHAM-REP-FIS (n=13)	ADM-REP-SAL (n=11)	ADM-REP-FIS (n=11)
Temperatura da pele da cauda (°C)	26,6 ± 0,2	26,7 ± 0,2	26,1 ± 0,3	26,9 ± 0,3

Os dados expressam média ± EPM.

A **figura 13** mostra a variação da temperatura da pele da cauda de ratos sham e adrenodemedulados em repouso. A temperatura da pele da cauda foi estável em todos os grupos ao longo do tempo, não havendo diferenças entre os tratamentos e grupos.

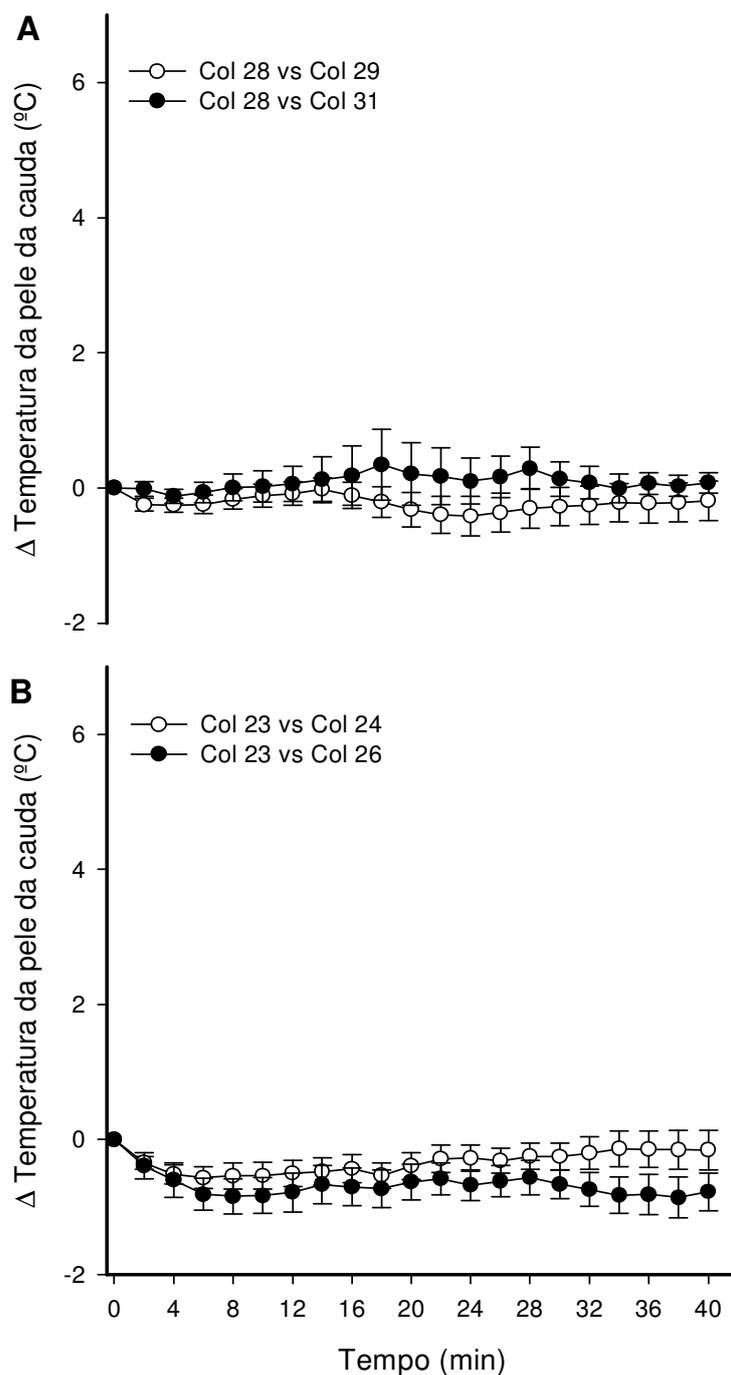


Figura 13. Efeito da injeção intracerebroventricular de NaCl (0,15 M) ou de fisostigmina (5×10^{-3} M) na variação da temperatura da pele da cauda em ratos sham (A) ou adrenalectomizados (B) no repouso com temperatura ambiente de $24,7 \pm 0,1$ $^{\circ}$ C. Os dados expressam média \pm EPM.

A **figura 14** mostra, que em repouso, as áreas integradas de 13 minutos sob a curva da variação da temperatura da pele da cauda (figura 12), não foi diferente entre os grupos experimentais ou entre os tratamentos.

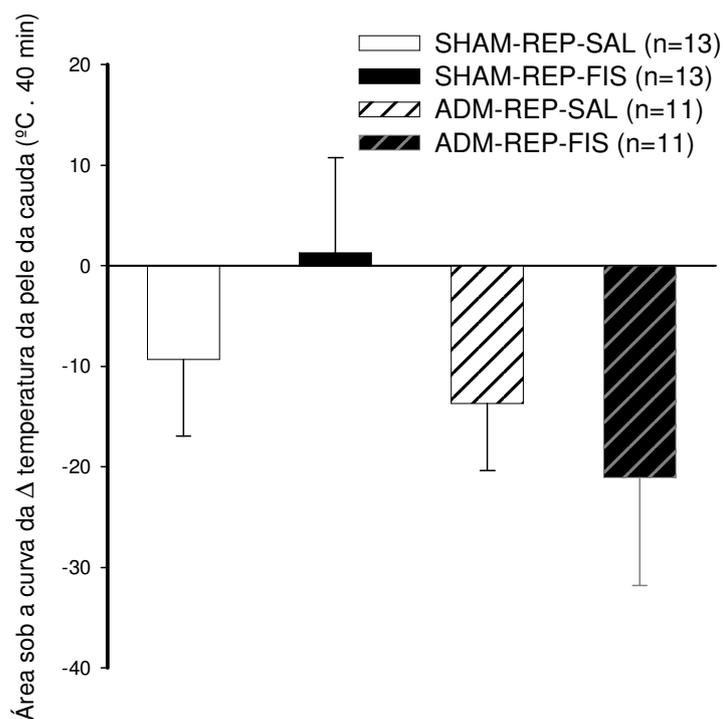


Figura 14. Efeito da injeção intracerebroventricular de NaCl (0,15 M) ou de fisostigmina (5×10^{-3} M) nas áreas integradas sob a curva da variação da temperatura da pele da cauda em ratos sham ou adrenodemedulados no repouso com temperatura ambiente de $24,7 \pm 0,1$ °C. Os dados expressam média \pm EPM.

Os gráficos que representam a variação da temperatura da pele da cauda durante o exercício estão expressos até o minuto 13, pois, este foi o tempo total máximo em que todos os animais permaneceram em exercício e o valor médio da fadiga é representado por um ponto isolado.

A **tabela 6** mostra, que os valores basais da temperatura da pele da cauda, nos grupos sham e adrenodemedulado submetidos ao exercício físico, não foram diferentes entre os tratamentos e grupos.

Tabela 6. Valores basais da temperatura da pele da cauda, dos grupos sham e adrenodemedulado submetidos ao exercício físico.

	SHAM-EX-SAL (n=11)	SHAM-EX-FIS (n=11)	ADM-EX-SAL (n=7)	ADM-EX-FIS (n=7)
Temperatura da pele da cauda (°C)	26,6 ± 0,3	26,1 ± 0,2	26,2 ± 0,5	25,9 ± 0,5

Os dados expressam média ± EPM.

A **figura 15** mostra, que o grupo sham submetido ao exercício aumentou a variação da temperatura da pele da cauda para a situação salina ($0,7 \pm 0,7$ °C aos 7 min; $p \leq 0,05$) e para a situação fisostigmina ($1,1 \pm 0,5$ °C aos 6 min vs; $p \leq 0,05$). A temperatura da pele da cauda foi maior na situação fisostigmina ($0,7 \pm 0,7$ °C para salina vs $2,3 \pm 0,5$ °C para fisostigmina no min 7; $p \leq 0,05$).

No grupo adrenodemedulado submetido ao exercício, a temperatura da pele da cauda também aumentou com o tratamento de salina ($1,2 \pm 0,7$ °C aos 6 min; $p \leq 0,05$) e com o de fisostigmina ($1,3 \pm 0,6$ °C aos 7 min; $p \leq 0,05$). A temperatura da pele da cauda foi maior na situação fisostigmina ($2,47 \pm 0,62$ °C para salina vs $3,5 \pm 0,5$ °C para fisostigmina aos 9; $p \leq 0,05$).

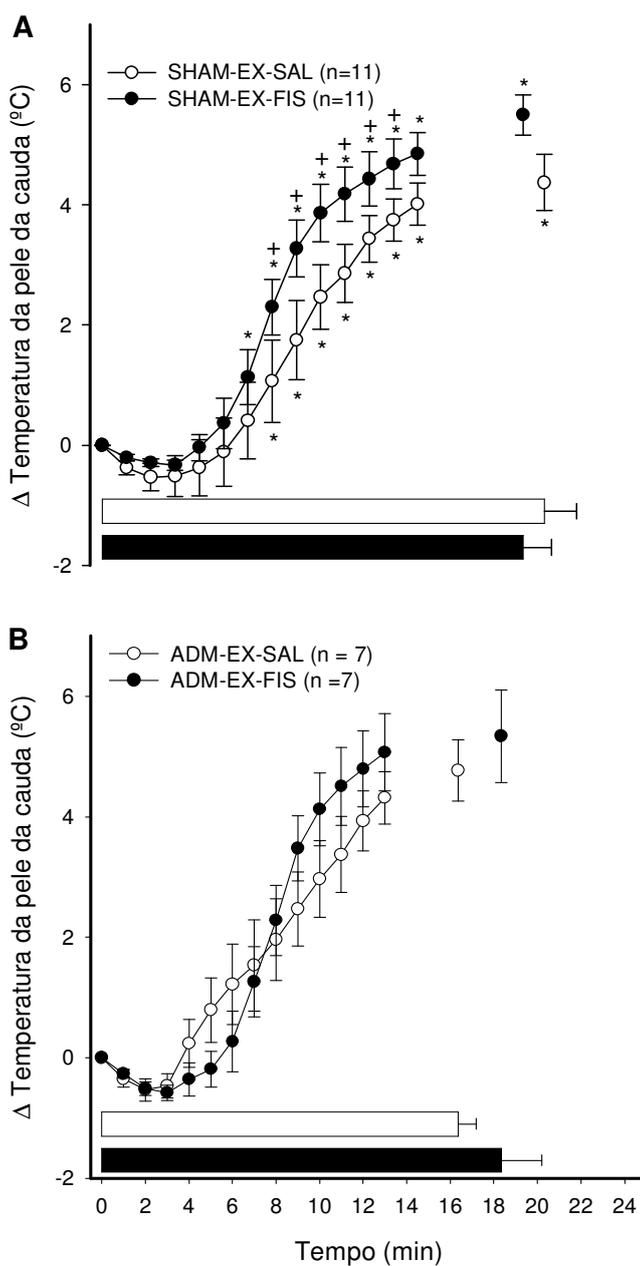


Figura 15. Efeito da injeção intracerebroventricular de NaCl (0,15 M) ou de fisostigmina (5×10^{-3} M) na variação da temperatura da pele da cauda em ratos sham (A) ou adrenalectomizados (B) submetidos ao exercício (24 m/min e 5 % de inclinação da esteira; ~80 % do VO_{2max}) na temperatura ambiente de $24,7 \pm 0,1$ °C. As barras horizontais indicam o tempo total de exercício para cada tratamento. Os dados expressam média \pm EPM. * $p \leq 0,05$ em comparação ao minuto zero. + $p \leq 0,05$ em comparação ao tratamento de salina.

A **figura 16** mostra, que as áreas integradas de 40 minutos sob a curva da variação da temperatura da pele da cauda (figura 14), durante o exercício físico até a fadiga (24 m/min e 5% de inclinação da esteira; ~80% do VO_{2max}) não foi diferente entre nenhuma das situações ou tratamentos.

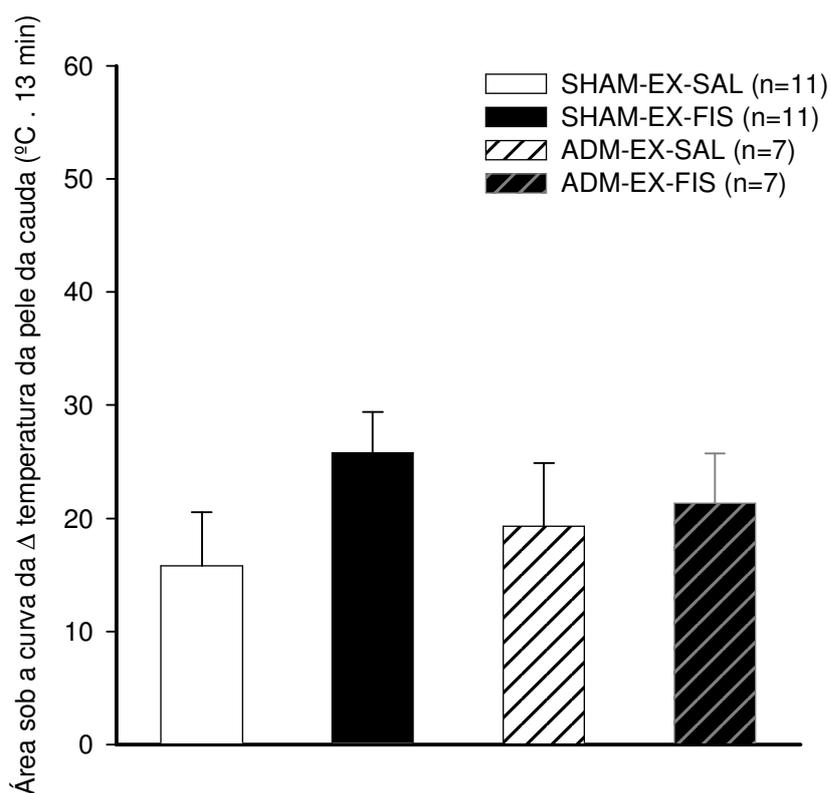


Figura 16. Efeito da injeção intracerebroventricular de NaCl (0,15 M) ou de fisostigmina (5×10^{-3} M) nas áreas integradas sob a curva da variação da temperatura da pele da cauda em ratos sham ou adrenodemedulados submetido ao exercício até a fadiga (24 m/min e 5 % de inclinação da esteira; ~80 % do VO_{2max}) na temperatura ambiente de $24,7 \pm 0,1$ °C. Os dados expressam média \pm EPM.

3.4. Temperatura intraperitoneal.

A **tabela 7** mostra, que os valores basais da temperatura intraperitoneal, nos grupos sham e adrenodemedulado mantidos em repouso, não foram diferentes entre os tratamentos e grupos.

Tabela 7. Valores basais da temperatura intraperitoneal, dos grupos sham e adrenodemedulado mantidos em repouso.

	SHAM-REP-SAL (n=6)	SHAM-REP-FIS (n=6)	ADM-REP-SAL (n=7)	ADM-REP-FIS (n=7)
Temperatura da pele da cauda (°C)	37,4 ± 0,3	37,5 ± 0,2	37,9 ± 0,2	37,9 ± 0,3

Os dados expressam média ± EPM.

A **figura 17** mostra a variação da temperatura intraperitoneal dos ratos sham e adrenodemedulados em repouso. A variação da temperatura intraperitoneal foi estável durante o repouso no grupo sham tratado com salina e aumentou na situação fisostigmina ($0,4 \pm 0,2$ °C aos 10 min; $p \leq 0,05$). Não houve diferença entre os tratamentos.

No grupo adrenodemedulado em repouso, a variação da temperatura intraperitoneal dos animais não foi alterada após o tratamento com salina ou com fisostigmina durante o período de repouso. Não houve diferença entre os tratamentos.

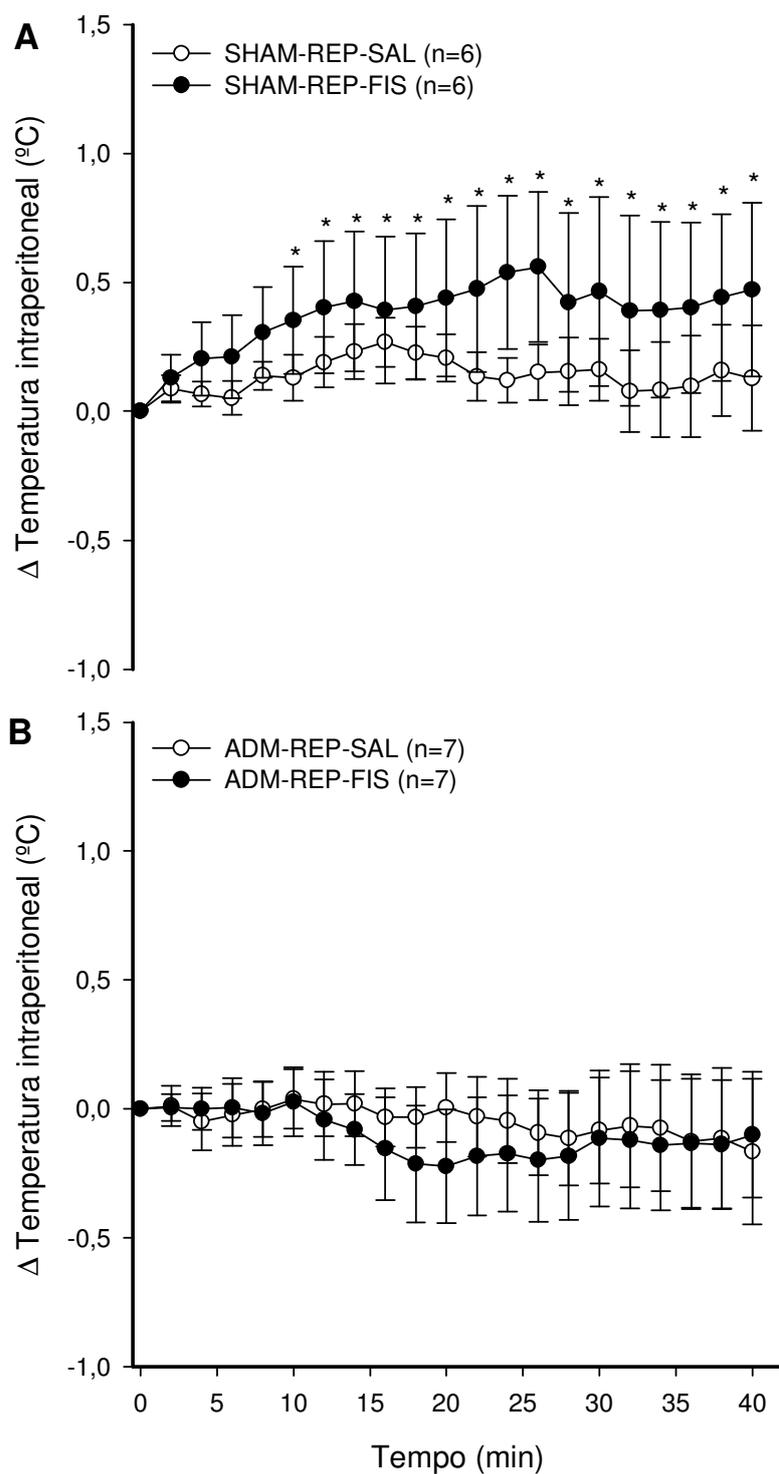


Figura 17. Efeito da injeção intracerebroventricular de NaCl (0,15 M) ou de fisostigmina (5×10^{-3} M) na variação da temperatura intraperitoneal em ratos sham (A) ou adrenalectomizados (B) no repouso com temperatura ambiente de $24,7 \pm 0,1$ °C. Os dados expressam média \pm EPM. * $p \leq 0,05$ em comparação ao minuto zero.

A **figura 18** mostra, que as áreas integradas de 40 minutos sob a curva de variação da temperatura intraperitoneal (figura 16), durante a situação de repouso não foi diferente entre nenhuma das situações ou tratamentos.

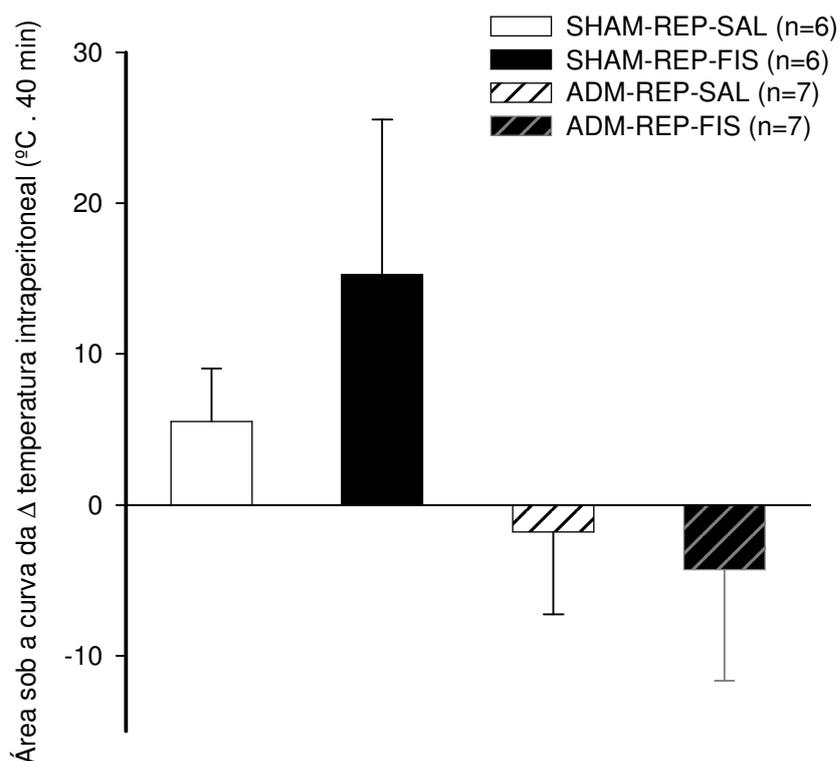


Figura 18. Efeito da injeção intracerebroventricular de NaCl (0,15 M) ou de fisostigmina (5×10^{-3} M) nas áreas integradas sob a curva da variação da temperatura intraperitoneal em ratos sham ou adrenodemedulados no repouso com temperatura ambiente de $24,7 \pm 0,1$ °C. Os dados expressam média \pm EPM.

Os gráficos que representam a variação da temperatura intraperitoneal durante o exercício físico estão expressos até o minuto 13, pois, este foi o tempo total máximo em que todos os animais permaneceram em exercício e o valor médio da fadiga é representado por um ponto isolado.

A **tabela 8** mostra, que os valores basais da temperatura intraperitoneal, nos grupos sham e adrenodemedulado submetidos ao exercício físico, não foram diferentes entre os tratamentos e grupos.

Tabela 8. Valores basais da temperatura intraperitoneal, dos grupos sham e adrenodemedulado submetidos ao exercício físico.

	SHAM-EX-SAL (n=6)	SHAM-EX-FIS (n=6)	ADM-EX-SAL (n=6)	ADM-EX-FIS (n=6)
Temperatura da pele da cauda (°C)	37,5 ± 0,2	37,5 ± 0,3	37,7 ± 0,4	37,7 ± 0,4

Os dados expressam média ± EPM.

A **figura 19** mostra, que no exercício físico, a variação da temperatura intraperitoneal do grupo sham aumentou tanto na situação salina ($0,20 \pm 0,08$ °C aos 6 min; $p \leq 0,05$) quanto na situação fisostigmina ($0,19 \pm 0,05$ °C aos 6 min; $p \leq 0,05$). Não houve diferença entre os tratamentos.

No grupo adrenodemedulado submetido ao exercício, a variação da temperatura intraperitoneal aumentou na situação salina ($0,18 \pm 0,06$ °C aos 6 min; $p \leq 0,05$) e na situação fisostigmina ($0,18 \pm 0,05$ °C aos 8 min; $p \leq 0,05$). Não houve diferença entre os tratamentos.

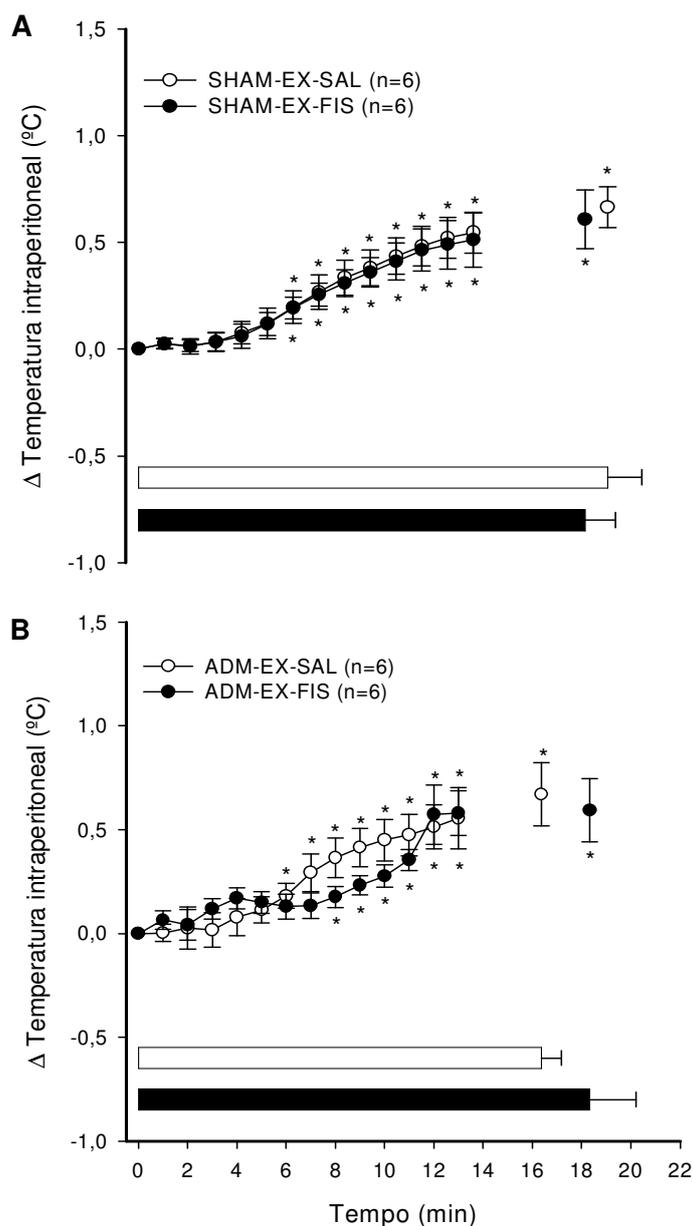


Figura 19. Efeito da injeção intracerebroventricular de NaCl (0,15 M) ou de fisostigmina (5×10^{-3} M) na variação da temperatura da pele da cauda em ratos sham (A) ou adrenodemedulados (B) submetidos ao exercício (24 m/min e 5 % de inclinação da esteira; ~ 80 % do $\text{VO}_{2\text{max}}$) na temperatura ambiente de $24,7 \pm 0,1$ $^{\circ}\text{C}$. As barras horizontais indicam o tempo total de exercício para cada tratamento. Os dados expressam média \pm EPM. * $p \leq 0,05$ em comparação ao minuto zero.

A **figura 20** mostra, que as áreas integradas de 13 minutos sob a curva de variação da temperatura intraperitoneal (figura 18), durante o exercício até a fadiga (24 m/min e 5 % de inclinação da esteira; ~80 % do VO_{2max}). Não foi diferente entre nenhuma das situações ou tratamentos.

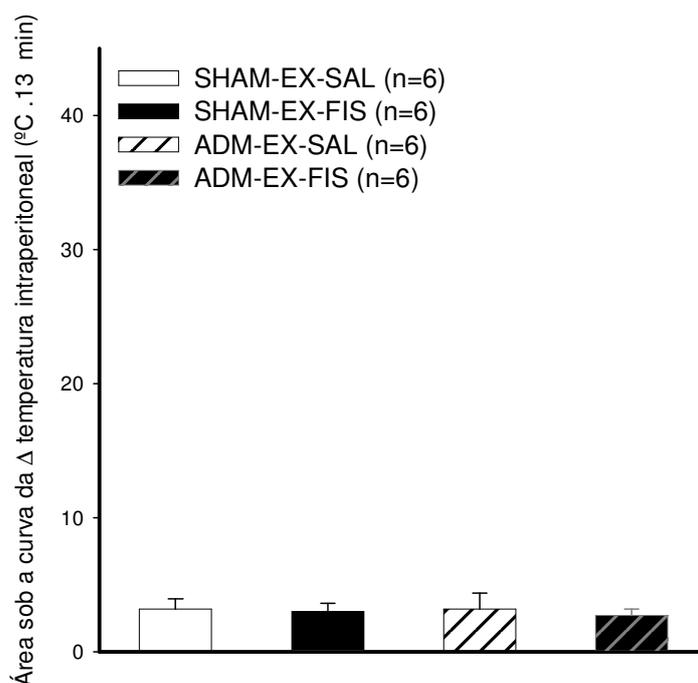


Figura 20. Efeito da injeção intracerebroventricular de NaCl (0,15 M) ou de fisostigmina (5×10^{-3} M) nas áreas integradas sob a curva da variação da temperatura intraperitoneal em ratos SHAM ou ADM submetido ao exercício até a fadiga (24 m/min e 5 % de inclinação da esteira; ~80 % do VO_{2max}) na temperatura ambiente de $24,7 \pm 0,1$ °C. Os dados expressam média \pm EPM.

3.5. Parâmetros de controle.

Os parâmetros de controle são: massa corporal; temperatura da esteira; temperaturas ambiente seca e úmida.

A **tabela 9** mostra, que a massa corporal e temperatura ambiente (seca ou úmida) não foram diferentes entre os tratamentos, nem entre os grupos ou em relação ao minuto zero na situação de repouso. A temperatura da esteira não foi diferente entre os grupos ou entre os tratamentos, mas foi diferente no minuto 40 em relação ao início do repouso (minuto zero).

Tabela 9. Massa corporal, temperatura da esteira, temperatura ambiente seca e temperatura ambiente úmida na situação de repouso.

	SHAM-REP-SAL (n = 14)	SHAM-REP-FIS (n = 14)	ADM-REP-SAL (n = 11)	ADM-REP-FIS (n = 11)
Massa corporal (g)	270 ± 7	270 ± 7	277 ± 6	280 ± 4
<i>T_{esteira} (°C)</i>				
0 min	25,0 ± 0,1	25,0 ± 0,1	24,3 ± 0,3	24,6 ± 0,3
40 min	25,4 ± 0,2*	25,5 ± 0,1*	25,2 ± 0,2*	25,4 ± 0,3*
<i>T_{as} (°C)</i>				
0 min	24,6 ± 0,2	24,8 ± 0,1	24,4 ± 0,3	24,2 ± 0,2
40 min	24,7 ± 0,3	24,8 ± 0,2	24,3 ± 0,3	24,4 ± 0,2
<i>T_{au} (°C)</i>				
0 min	21,7 ± 0,6	21,7 ± 0,6	21,2 ± 0,6	21,2 ± 0,5
40 min	21,8 ± 0,6	21,6 ± 0,6	21,3 ± 0,6	21,4 ± 0,4

Os dados expressam média ± EPM. * $p \leq 0,05$ em relação ao minuto zero.

A **tabela 10** mostra, que a massa corporal e temperatura ambiente (seca ou úmida) não foram diferentes entre os tratamentos, nem entre os grupos ou em relação ao minuto zero na situação de exercício. A temperatura da esteira não foi diferente entre os grupos ou entre os tratamentos, mas foi diferente no momento de fadiga em relação ao início do exercício (minuto zero).

Tabela 10. Massa corporal, temperatura da esteira, temperatura ambiente seca e temperatura ambiente úmida durante o exercício.

	SHAM-EX-SAL (n = 13)	SHAM-EX-FIS (n = 13)	ADM-EX-SAL (n = 9)	ADM-EX-FIS (n = 9)
Massa corporal(g)	294 ± 7	298 ± 7	298 ± 8	294 ± 10
<i>T_{esteira} (°C)</i>				
<i>0 min</i>	24,5± 0,2	24,4± 0,2	24,4± 0,2	24,4± 0,3
<i>fadiga</i>	25,0± 0,2*	25,1± 0,1*	25,1± 0,3*	25,1± 0,3*
<i>T_{as} (°C)</i>				
<i>0 min</i>	24,6± 0,1	24,6± 0,2	24,2± 0,2	24,0± 0,3
<i>fadiga</i>	24,7± 0,1	24,7± 0,2	24,2± 0,2	24,1± 0,4
<i>T_{au} (°C)</i>				
<i>0 min</i>	19,8± 0,3	20,7± 0,5	20,1± 0,4	20,3± 0,6
<i>fadiga</i>	20,1± 0,3	21,0± 0,4	20,3± 0,5	20,4± 0,6

Os dados expressam média ± EPM. * p ≤ 0,05 em relação ao minuto zero.

O principal achado deste estudo foi que o aumento da pressão arterial induzido pela estimulação dos receptores colinérgicos centrais durante o repouso é dependente da ação da adrenalina periférica (figuras 7 e 8). O aumento da pressão arterial durante o repouso, induzido pela estimulação colinérgica central, tem como mecanismo essencial o sistema simpático que estimula a produção de catecolaminas pelas adrenais, uma vez que a injeção intracerebroventricular de fisostigmina em ratos sham, aumentou as pressões arteriais média, sistólica e diastólica (figura 7), mas nos ratos adrenodemedulados em repouso, estas respostas foram atenuadas (figura 8). Entretanto, durante o exercício físico os aumentos das pressões arteriais média, sistólica e diastólica pela neurotransmissão colinérgica independem da secreção adrenal (figuras 10 e 11). Porém, nos ratos adrenodemedulados durante o exercício físico, os aumentos das pressões arteriais média e sistólica, provocado pela injeção intracerebroventricular de fisostigmina, não tiveram participação do sistema simpático-adrenal nas respostas dos parâmetros cardiovasculares acima citados (figura 11), porque foram de mesma intensidade daquelas observadas nos animais sham em exercício (figura 12).

Várias evidências experimentais mostraram que a injeção intracerebroventricular de fisostigmina e de outros agonistas colinérgicos como a neostigmina ou carbacol aumentam a pressão arterial de ratos em repouso (ALLY et al, 1995; BREZENOFF, 1973; BREZENOFF et al, 1994; PIRES et al, 2007; TAIRA, 1998). Esta modulação cardiovascular ocorre em função de um aumento tanto da atividade simpática cardíaca quanto da vascular. Foi verificado por Li et al (1997) e Brezenoff et al (1994) que a neostigmina, quando injetada no ventrículo cerebral lateral de ratos não anestesiados, provocou aumento na pressão arterial, sendo que esta alteração se correlacionou com o aumento na imunorreatividade *c-fos* na região

do hipotálamo, principalmente no hipotálamo posterior, núcleos paraventriculares e supra-ópticos.

Outros centros de integração localizados no hipotálamo e no bulbo estão envolvidos nos ajustes cardiovasculares mediados pela neurotransmissão colinérgica. Como exemplo, o bloqueio dos receptores muscarínicos do hipotálamo posterior núcleo atenua o aumento da pressão arterial induzido pela injeção intracerebroventricular de neostigmina (BREZENOFF, 1973).

Palma et al. (2004) mostraram um aumento de pressão arterial após a injeção de fisostigmina no hipotálamo posterior de ratos conscientes. Existem projeções anatômicas e funcionais entre áreas hipotalâmicas e bulbares que mediam o aumento da atividade simpática (KUBO, 1998). Wanner (2006) demonstrou que os núcleos ventromediais do hipotálamo têm envolvimento com o controle colinérgico da pressão arterial, pois encontrou antecipação do aumento da mesma em ratos durante o exercício físico, após bloqueio dos receptores colinérgicos dos núcleos ventromediais do hipotálamo com a metilatropina. Isto possivelmente ocorreu, devido ao maior tônus simpático para os vasos periféricos, que foi indicado pelo retardo no aumento da temperatura da pele da cauda.

Os efeitos cardiovasculares da estimulação colinérgica realizada por meio de agentes anticolinesterásicos são também mediados por neurônios localizados no bulbo. A injeção de fisostigmina ou carbacol no bulbo ventrolateral rostral e nos núcleos dorsais da formação reticular provocou aumento da pressão arterial em ratos anestesiados (KUBO e MISU, 1983; LEE et al, 1991). Os núcleos reticulares ventromediais rostrais são definidos funcionalmente como o centro vasomotor e existem projeções neurais destes núcleos até a coluna intermediolateral da medula espinhal (KUBO, 1998). Existem também projeções de regiões do hipotálamo para o centro vasomotor (KUBO, 1998). Os receptores muscarínicos no hipotálamo

ventromedial estão envolvidos nos ajustes da pressão arterial durante o exercício. Neurônios colinérgicos na área C1 localizada no bulbo ventrolateral rostral estão envolvidos na resposta pressora induzida pela fisostigmina. Giuliano et al (1989) mostraram que a lesão eletrolítica desta área bloqueou o aumento da pressão arterial desencadeado pela injeção intravenosa de fisostigmina em ratos anestesiados.

Os dados acima, mostram que os receptores colinérgicos modulam a atividade simpática e a pressão arterial durante o exercício, e estes ajustes ocorrem por meio de uma via envolvendo os núcleos hipotalâmicos e regiões do bulbo que modulam as respostas autonômicas.

Alguns autores (ARSLAN et al, 1991; ESLER et al, 1995; HONMURA et al, 1992; IGUSHI et al, 1991; KAUL e GREWAL, 1968; LIMA et al, 2000; SAVCI et al, 2002; STEWART e ROGOFF, 1921) mostram que a injeção, tanto central quanto peritoneal, de agonistas colinérgicos aumentam a concentração plasmática de adrenalina e noradrenalina. Isto porque, em ratos adrenodemedulados, não houve aumento da adrenalina e o aumento da noradrenalina foi reduzido, provavelmente porque sua produção não é na maior parte dependente da medula da adrenal. Portanto, o efeito da adrenalina foi bloqueado, mas o da noradrenalina foi atenuado.

Kristić and Djurković (1978) mostraram que a transsecção da medula espinhal bloqueou o aumento da pressão arterial de ratos anestesiados após a injeção intracerebroventricular de acetilcolina, sugerindo que a resposta foi mediada pela transmissão simpática ganglionar.

Willette et al (1984) verificaram um aumento na atividade simpática esplâncnica após a injeção de fisostigmina ou carbacol no bulbo ventrolateral. Além disso, a administração sistêmica de fisostigmina provocou aumento da atividade

simpática esplâncnica em ratos anestesiados, que foi abolido pela lesão eletrolítica da área C1 no bulbo ventrolateral (GIULIANO et al, 1989).

De acordo com os dados de Milutinovic´ et al (2006), a injeção intravenosa de fentolamina, um bloqueador não-seletivo $\alpha_{1,2}$ -adrenérgico e a injeção intravenosa de metoprolol, bloqueador seletivo β_1 -adrenérgico, atenuaram o aumento da pressão arterial induzido pela estimulação colinérgica. O aumento da pressão arterial induzido pela injeção intracerebroventricular de carbacol em ratos não anestesiados foi atenuada pela injeção intravenosa de fentolamina (IMAI et al, 1989). Imai et al (1989) e Milutinovic´ et al (2006), mostraram que o efeito da fisostigmina, na pressão arterial sistólica parece ser mediado por receptores muscarínicos centrais e pelo sistema simpático periférico.

Os dados do presente estudo mostram que a ação da adrenalina é um fator preponderante sobre o aumento da pressão arterial induzido pela estimulação colinérgica central, uma vez que, no repouso, esta foi bloqueada após a adrenodemedulação (figura 8). Nossos dados corroboram com os resultados de Brezenoff (1973), que verificou, que em ratos adrenalectomizados não anestesiados, o aumento de pressão arterial induzido pela injeção intracerebroventricular de fisostigmina em repouso foi atenuado. De acordo com os estudos citados acima, podemos sugerir que o aumento da concentração plasmática de adrenalina induzido pela injeção de fisostigmina aumenta a atividade simpática cardíaca e vascular. De fato, nos ratos sham em repouso, tanto a pressão arterial sistólica quanto a diastólica aumentaram após a injeção de fisostigmina (figura 7) mostrando um aumento da força de contração do miocárdio (aumento da pressão arterial sistólica) e da resistência vascular periférica (aumento da pressão arterial distólica), respectivamente.

Nos vasos, a noradrenalina secretada pelas terminações nervosas, ou a adrenalina periférica, se ligam aos receptores α -adrenérgicos presentes no músculo liso dos vasos sangüíneos, causando vasoconstrição. Estes receptores quando ativados exercem sua função metabólica através de segundos mensageiros e abertura de canais iônicos (GILMAN et al, 1990). A noradrenalina produz vasoconstrição em praticamente todos os órgãos através dos receptores α_1 , o que aumenta a resistência periférica. A adrenalina dilata os vasos sangüíneos no coração, na musculatura esquelética e no fígado por meio dos receptores β_2 , o que compensa a vasoconstrição produzida pela adrenalina no rim, baço e mesentério e a resistência periférica total pode cair.

A pressão arterial diastólica é determinada principalmente pela resistência vascular periférica. Neste estudo, foi observado aumento da pressão arterial diastólica, sugerindo aumento da resistência vascular periférica no repouso após a injeção central de fisostigmina nos ratos sham (figura 7), mas não nos ratos adrenodemedulados (figura 8), indicando que o aumento da resistência vascular periférica foi provocado pela ação das catecolaminas. Como dito anteriormente, a adrenalina não aumenta a resistência vascular periférica podendo reduzi-la, mas a noradrenalina aumenta a resistência vascular periférica. È esperado que a produção de noradrenalina tenha sido atenuada, devido à falta da medula da adrenal nos ratos adrenodemedulados, possivelmente, a quantidade de noradrenalina produzida nos ratos adrenodemedulados, não foi suficiente para aumentar a resistência periférica destes animais.

Como o bloqueio da via simpática adrenal bloqueou o aumento da pressão arterial provocado pela fisostigmina, possivelmente as outras vias simpáticas (cardíaca, vascular entre outras) que participam do ajuste da pressão arterial, têm menor influência no aumento da pressão arterial induzido pela maior ativação

colinérgica central e provavelmente, não devem modificar a resposta na pressão arterial provocada pela injeção central de fisostigmina.

Durante o exercício físico, é possível que a injeção intracerebroventricular de fisostigmina não tenha como principal via de ação para aumento da pressão arterial a via simpática das adrenais, já que a adrenodemedulação não bloqueou o aumento da pressão arterial (figura 12). Provavelmente, como a atividade simpática já estava aumentada pelo comando central no exercício e o sistema colinérgico não poderia aumentar a produção de adrenalina periférica nos ratos adrenodemedulados, a maior atividade colinérgica pode ter compensado a maior ativação simpática por outras vias, como, a via simpática direta para o coração, para os vasos e para os rins. Neste caso, é possível sugerir que um animal bloqueado em alguma destas outras vias, quando em exercício, não deverá sofrer alteração no aumento da pressão arterial provocado pela injeção central de fisostigmina, assim como ocorreu nos ratos adrenodemedulados, devido ao aumento compensatório de outras vias simpáticas. Outra hipótese possível é que durante o exercício, qualquer outra via simpática que não seja a que inerva as adrenais, seja a principal responsável pelo aumento da pressão arterial provocado pela estimulação colinérgica. Neste caso, o rato com bloqueio na via simpática que é responsável pelo aumento da pressão arterial provocado pela injeção central de fisostigmina bloquearia ou atenuaria este aumento.

O estudo de Wanner (2006) também verificou diferentes respostas cardiovasculares entre o repouso e exercício, após bloqueio das sinapses colinérgicas, com injeção de metilatropina, no núcleo ventromedial do hipotálamo. A injeção de metilatropina no repouso, não alterou os valores da pressão arterial, mas durante o exercício o aumento da pressão arterial foi antecipado em relação ao controle.

É importante lembrar que a fisostigmina é um agonista colinérgico indireto, isto é, é um anticolinesterásico, portanto, bloqueia temporariamente a enzima que degrada a acetilcolina na fenda sináptica (acetilcolinesterase), ou seja, a ação é diferente de outros agonistas que são precursores e/ou estimulam a produção de acetilcolina. A fisostigmina simplesmente mantém a acetilcolina na fenda sináptica por mais tempo e portanto, sem a liberação de acetilcolina provocada por outros estímulos, a fisostigmina não provoca aumento da atividade colinérgica.

No repouso, o hipotálamo, que é a principal área banhada pela fisostigmina, tem efeito no controle da pressão arterial, como visto, porém no exercício físico isso não ocorreu. Durante o exercício físico, já existe um mecanismo, independente da fisostigmina injetada intracerebroventricularmente, que provoca aumento da pressão arterial. Estas regiões ativadas paralelamente as ativadas pela fisostigmina, podem compensar de maneira independente às catecolaminas periféricas no aumento extra da pressão arterial.

No estudo de Pires et al (2007), foi realizada injeção intracerebroventricular de fisostigmina em ratos em repouso e foi verificado aumento da pressão arterial com conseqüente redução da freqüência cardíaca, quando a fisostigmina foi injetada em ratos antes do exercício físico houve aumento da pressão arterial e menor aumento da freqüência cardíaca. A redução na freqüência cardíaca após a estimulação colinérgica, provavelmente foi mediada por mecanismos barorreflexos. Em outros estudos, a resposta pressora induzida pela injeção de agonistas colinérgicos nos ventrículos cerebrais e núcleos hipotalâmicos de ratos em repouso, também foi acompanhada por diminuições na freqüência cardíaca (IMAI et al, 1989; PALMA et al, 2004 e SAVCI et al, 2002). A desnervação dos barorreceptores carotídeos e aórticos inibiu a bradicardia induzida pela injeção intracerebroventricular de neostigmina (TAIRA, 1998).

Nos dados do presente estudo, não foi vista uma resposta barorreflexa após a injeção central de fisostigmina. Isto porque a frequência cardíaca não variou durante o repouso tanto após a injeção central de fisostigmina ou salina nos ratos sham (figura 7), o que também foi observado nos ratos adrenodemedulados (figura 8). Provavelmente, isto ocorreu, porque talvez a magnitude de aumento da pressão arterial não tinha sido suficiente para provocar redução na frequência cardíaca. Ainda no repouso, ocorreu um aumento na pressão arterial média, na pressão arterial sistólica, na pressão arterial diastólica e na frequência cardíaca em relação ao momento da injeção, que foi encontrado tanto após a injeção de salina, quanto após a injeção de fisostigmina, nos ratos sham (figura 7) ou nos adrenodemedulados (figura 8). É possível que este aumento nas variáveis tenha ocorrido devido ao estresse provocado pelo manuseio dos animais durante a injeção intracerebroventricular e pelo deslocamento dos animais entre os ambientes (caixa de acrílico para a esteira). É importante destacar que o ambiente de repouso foi a esteira, para manter o mesmo ambiente do exercício, mas este não é um ambiente ao qual o rato está adaptado.

No exercício, a frequência cardíaca também não foi diferente entre as situações, fisostigmina e salina no grupo sham (figura 10). No grupo adrenodemedulado submetido ao exercício físico, a situação não foi diferente da do grupo sham, entretanto no momento de fadiga exclusivamente, a frequência cardíaca foi menor na injeção de fisostigmina em relação à salina (figura 11), é provável que esta seja uma situação isolada, já que o mesmo não aconteceu com a pressão arterial, ou com a temperatura da pele da cauda e temperatura intraperitoneal.

O barorreflexo é um mecanismo de ajuste agudo da pressão arterial, no qual a distensão das paredes arteriais provocada pelo aumento da pressão arterial,

estimula os barorreceptores presentes no seio carotídeo e no arco aórtico, através da distensão dos vasos. Quando estimulados, os barorreceptores aumentam a frequência de disparos para o núcleo do trato solitário no bulbo, por meio do nervo do seio carotídeo e do nervo depressor aórtico. Do núcleo do trato solitário existem projeções para a região ventrolateral caudal e desta para a região ventrolateral rostral do bulbo, de onde partem projeções para a coluna intermediolateral na medula espinhal. Este é o principal local de origem das fibras simpáticas na medula espinhal. Do núcleo do trato solitário existem também projeções para dois outros núcleos neuronais, núcleo ambíguo e dorso motor do vago, que modulam a divisão parassimpática do sistema nervoso autônomo. Os principais braços eferentes do reflexo são as alterações da atividade autonômica para o coração e vasos sangüíneos. O aumento da atividade simpática aumenta a frequência cardíaca pela inervação direta no nodo sinusal, o aumento da força de contração do miocárdio também é aumentada por esta inervação. As artérias dos leitos renais, esplâncnicos e musculares são inervadas pelo simpático, sendo que o aumento da atividade autonômica provoca vasoconstrição destes vasos e a diminuição da atividade provoca vasodilatação (GUYENET, 2006).

Durante o exercício, a pressão arterial e a frequência cardíaca aumentam simultaneamente, isso porque o ponto de operação do barorreflexo é reajustado a um maior valor de pressão de perfusão (RAVEN et al, 2002). O reajuste central do barorreflexo durante o exercício ocorre dentro do núcleo do trato solitário. O principal determinante deste reajuste é o controle por mecanismos de pré-alimentação a partir do comando central associado a um controle por *feedback* modulatório proveniente do reflexo pressor do exercício bem como dos barorreceptores cardiopulmonares, os quais sinalizam o volume central de sangue (RAVEN et al, 2002). O ponto de operação do reflexo é re-estabelecido de acordo com a intensidade do exercício,

quanto maior a intensidade o ponto de operação é reajustado para um maior valor de pressão arterial (RAVEN et al, 2002). Entretanto, não está bem definido se a sensibilidade do barorreflexo é alterada durante o exercício.

A pressão arterial pode influenciar a temperatura da pele da cauda (principal via de dissipação de calor) e conseqüentemente a temperatura corporal interna. O aumento da pressão arterial pode aumentar o fluxo sangüíneo cutâneo na cauda e isto pode reduzir a temperatura corporal interna. Pires et al (2007) mostraram que a injeção intracerebroventricular de fisostigmina aumentou a temperatura da pele da cauda durante o repouso e em exercício. Além disso, em ratos anestesiados, aumentos na pressão arterial sistêmica foram acompanhados por aumentos no fluxo sangüíneo na cauda (ZHANG et al, 2003). No rato, alterações na temperatura da pele da cauda refletem modificações no fluxo sangüíneo (O'LEARY et al, 1985).

A injeção intracerebroventricular de fisostigmina também pode influenciar a temperatura da pele da cauda e a temperatura intraperitoneal. PIRES et al, 2007 demonstraram que a injeção de fisostigmina realizada imediatamente antes do início do exercício, na mesma concentração utilizada no presente estudo (5×10^{-3} M), aumentou a dissipação de calor atenuando o aumento da temperatura corporal de ratos correndo a $\sim 80\%$ VO_{2max} . O aumento do fluxo cutâneo foi precedido por um aumento de pressão arterial nesses animais. Além disso foi encontrada uma forte correlação entre as alterações de pressão arterial sistólica e da temperatura da pele da cauda dos ratos tanto em repouso quanto em exercício.

Neste estudo, verificamos que no grupo sham em repouso não houve diferença na temperatura da pele da cauda (figura 13) e na temperatura intraperitoneal (figura 17) dos animais quando comparadas as situações fisostigmina e salina, o que corrobora os estudos de Prímola-Gomes (2004) e Rodrigues (2004).

A temperatura intraperitoneal dos ratos sham em repouso aumentou em relação ao momento da injeção intracerebroventricular de fisostigmina (figura 17). Outros estudos (MATTEW et al, 1992 e UNAL et al, 1998) encontraram diminuição da temperatura corporal central após injeção de fisostigmina em animais em repouso, sendo esta resposta dependente da concentração da droga. Prímola-Gomes (2004) e Rodrigues (2004) não encontraram variação na temperatura retal após injeção de fisostigmina em repouso, na mesma concentração (5×10^{-3} M), e Fehlner e Gordon (1985) mostraram que em temperaturas ambientes de 15 e 25 °C a fisostigmina não possui efeitos hipotérmicos em concentrações próximas à de 5×10^{-3} M como utilizado no presente estudo. Existem dois fatores que modificam a temperatura corporal interna, a produção e a dissipação de calor, como no presente estudo, não houve aumento na dissipação de calor com a injeção de fisostigmina, o aumento da temperatura intraperitoneal deve ser devido a um aumento da produção de calor. Porém, apesar de não ter analisado a movimentação dos animais dentro da esteira, visivelmente os animais ficam mais estressados após a injeção central de fisostigmina, o deslocamento é maior. A temperatura intraperitoneal dos ratos adrenodemedulados não foi alterada após injeção de salina ou fisostigmina no repouso (figura 17).

As catecolaminas periféricas são outro fator que podem influenciar no controle da termorregulação. Landsberg et al (1984) mostraram que o sistema simpático das adrenais participa da produção de calor em ratos. A ativação deste sistema aumenta a termogênese do tecido adiposo marrom, principalmente através da estimulação de receptores β . Porém, o tecido adiposo marrom é conhecido por ser ativo apenas no frio, mas pouco se sabe quanto à estimulação colinérgica central (Landsberg et al, 1984). Além disso, é possível que este sistema simpático que inerva a adrenal participe da termogênese do tecido adiposo branco.

Nos ratos adrenodemedulados em repouso, não houve alteração na temperatura da pele da cauda em relação ao momento de injeção (figura 13), tanto nos tratados com salina quanto com fisostigmina e em relação as diferentes injeções. Não houve diferença na temperatura da pele da cauda (figura 14) e na temperatura intraperitoneal (figura 18) entre ratos sham e ratos adrenodemedulados no repouso.

A injeção central de salina nos ratos sham em repouso, não provoca aumento nas concentrações plasmáticas de adrenalina periférica a ponto de aumentar a produção de calor. Já a injeção central de fisostigmina (5×10^{-3} M) nos ratos sham em repouso, pode aumentar as concentrações plasmáticas de adrenalina, de acordo com outros estudos, mas, neste estudo, mesmo que tenha ocorrido este aumento, ele não provocou alteração na produção de calor. O aumento da produção de calor pode, acarretar aumento da dissipação de calor para manter a temperatura corporal interna, ou acarretar aumento da temperatura corporal interna, caso a dissipação de calor seja mantida ou, seja menor que a quantidade de calor produzida. Portanto, não era esperado, que nos ratos adrenodemedulados, ocorresse uma alteração na temperatura da pele da cauda e na temperatura intraperitoneal.

O exercício provoca algumas alterações que foram observadas no grupo controle deste estudo (ratos sham após a injeção intracerebroventricular de salina), como: aumento da pressão arterial média; aumento da pressão arterial sistólica; aumento da pressão arterial diastólica (o que não é bem estabelecido em humanos, mas tem sido demonstrado em ratos) (figura 10) para manter a perfusão tecidual nos animais; aumento da frequência cardíaca (figura 10) o que ajuda no aumento do débito cardíaco; aumento da dissipação de calor (figura 15), para tentar evitar grandes alterações na temperatura corporal interna e aumento da temperatura corporal interna, a partir do momento que a quantidade de calor produzida torna-se

maior do que a quantidade de calor que está sendo dissipada (figura 19). Os outros grupos submetidos ao exercício: grupo sham após injeção central de fisostigmina; grupo adrenodemedulado após injeção central de salina e grupo adrenodemedulado após injeção central de fisostigmina, estas respostas não foram diferentes em relação ao controle.

No exercício, a injeção intracerebroventricular de fisostigmina, aumentou a pressão arterial média, a pressão arterial sistólica e a dissipação de calor, além do aumento provocado pelo exercício e pela injeção central de salina nos animais sham (figuras 10 e 15). Os ratos adrenodemedulados em exercício, tiveram o mesmo comportamento dos ratos sham em exercício, em todos os parâmetros medidos, sendo que após a injeção intracerebroventricular de fisostigmina, houve aumento da dissipação de calor (figura 11), provavelmente devido ao aumento da pressão arterial (figura 11). Porém, esse aumento não atenuou o aumento da temperatura intraperitoneal (figura 19). Esta não alteração na temperatura intraperitoneal nos ratos sham e adrenodemedulados, durante o exercício, são possivelmente devido, ao pequeno tempo total de exercício, à magnitude do aumento na dissipação do calor ou a um aumento na produção de calor.

O presente trabalho mostra que a adrenodemedulação não modificou o tempo total de exercício até a fadiga (figura 5), o que corrobora os estudos de Arnals et al (1986) e estudos anteriores de nosso laboratório (GOMES-FILHO, 2000 e LIMA et al, 2001). A temperatura interna não foi a responsável pelo fim do exercício já que não foi diferente entre o grupo salina e fisostigmina no momento da fadiga e aumentou em aproximadamente 0,5 °C, durante o período de exercício, atingindo o valor aproximado de 38,3 °C, temperatura interna que não é considerada limitante para a continuidade do exercício.

O tempo total de exercício não foi diferente entre a situação salina e a situação fisostigmina nem em ratos sham, nem em ratos adrenodemedulados (figura 5), o que corrobora os estudos de Pires et al (2007) e Rodrigues et al (2004). O aumento da dissipação de calor provocado pela injeção de fisostigmina não foi suficiente para reduzir a temperatura intraperitoneal durante o exercício. Isto pode ter ocorrido, devido a uma compensação com maior aumento na produção de calor. A temperatura intraperitoneal não alterou sob estimulação colinérgica e aumentou em aproximadamente 0,5 °C com o exercício (figura 19), o que mostra, não ter sido determinante para o momento de fadiga.

E importante lembrar que a injeção central de atropina, um antagonista colinérgico, reduz o tempo total de exercício (GUIMARÃES, 2007, LIMA et al, 2000; WANNER et al,2007).

O presente estudo mostrou que a ausência de catecolaminas periféricas associada à maior atividade do sistema colinérgico também não alterou o tempo total de exercício (figura 5).

Os dados estão de acordo com o modelo da fadiga aguda como um mecanismo de defesa, que integra múltiplos sistemas sensoriais, no qual diferentes fatores (disponibilidade de substratos, temperatura corporal, equilíbrio ácido – básico e eletrolítico, fluxo sanguíneo, ventilação pulmonar, atividade neural e outros) estão associados permanentemente à determinação da intensidade e duração suportáveis do exercício (NOAKES et al, 2000; RODRIGUES e SILAMI-GARCIA, 1998).

5. CONCLUSÃO

A maior atividade simpática eferente na ausência de adrenalina periférica não altera o tempo total de exercício.

No repouso, os ajustes cardiovasculares e termorregulatórios não são modulados pelos receptores colinérgicos centrais.

Os ajustes cardiovasculares e termorregulatórios induzidos pelo exercício físico são modulados por receptores colinérgicos centrais mesmo na ausência de catecolaminas.

AKIYAMA, T.; YAMAZAKI, T.; MORI, H. and SUNAGAWA, K. Effects of Ca²⁺ channel antagonists on acetylcholine and catecholamine releases in the in vivo rat adrenal medulla. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* Vol. 287, 161 – 166, 2004.

ALDERDICE, M. T. Physostigmine, but not neostigmine, inhibits acetylcholine release. *Brain Research.* Vol. 78, pp. 596 – 599, 1979.

ALLY, A.; WILSON, L. B.; NÓBREGA, A. C. L.; MITCHELL, J. H. Cardiovascular effects elicited by central administration of physostigmine via M₂ muscarinic receptors in conscious cats. *Brain Research.* Vol. 677, pp. 268 – 276, 1995.

ANTUNES- RODRIGUES, J. e McCANN, S. M. Water, sodium chloride, and food intake induced by injections of cholinergic and adrenergic drugs into the third ventricles of the rat brain. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* Vol. 133, pp. 1464-1470, 1970.

ARNALS, D. A.; MARKER, J. C.; CONLEE, R. K. e WINDER, W. W. Effect of infusing epinephrine on liver and muscle glycogenolysis during exercise in rats. *Am. J. Physiol.* 250 (*Endocrinol. Metab.* 13), pp. 641 – 649, 1986.

ARSLAN, B. Y.; ULUS, I. H.; SAVCI, V. e KIRAN, B. K. Effects of intracerebroventricular choline on cardiovascular functions and sympathoadrenal activity. *Journal of Cardiovascular Pharmacology.* Vol. 17, pp. 814 – 821, 1991.

BEVAN, J. A. e LAHER, I. Pressure and flow - dependent vascular tone. *Faseb J.* Vol. 5, pp. 2267 – 2273, 1991.

BREZENOFF, H. E. Centrally induced pressor responses to intravenous and intraventricular physostigmine evoked via different pathways. *European Journal of Pharmacology.* Vol. 23, n. 3, pp. 290 – 292, 1973.

BREZENOFF, H. E., LI, J. e TKACS, N. Cholinergic stimulation of the brain increases blood pressure and evokes c-Fos expression in specific brain nuclei. *Am. J. Hypertension.* Vol. 7, pp. 137A, 1994.

BUCCAFUSCO, J. J. The Role of Central Cholinergic Neurons in the Regulation of Blood Pressure and in Experimental Hypertension. *Pharmacological Reviews.* Vol.48, n. 2, pp. 179- 211, 1996.

CHALMERS, J. e PILOWSKY, P. Brainstem and bulbospinal neurotransmitter systems in control of blood pressure. *J. Hypertension.* Vol. 9, pp. 675 – 694, 1991.

DE GROOT, J. The rat forebrain stereotaxic coordinates. *Proc. K. Ned. Wet.* Vol. 62, pp. 1- 40, 1959.

DICARLO, E. e BISHOP, V. S. Onset of exercise shifts operating point of arterial baroreflex to higher pressures. *Am. J. Physiol.* 262 (*Heart Circ. Physiol.* 31) pp. 303 – 307, 1992.

ESLER, M.; KAYE, D.; THOMPSON, J.; JENNINGS, G.; COX, H.; TURNER, A.; LAMBERT, G. e SEALS, D. Effects of aging on epinephrine secretion and regional release of epinephrine from the human heart. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* Vol. 80, pp. 435 – 442, 1995.

FEHLNER, K. S. e GORDON, C. J. Effect of ambient temperature on thermoregulation in rats following preoptic area/ anterior hipotalamic injection of physostigmine. *Neuropharmacology.* Vol. 24, n. 10, pp. 993- 997, 1985.

GILMAN, A. G.; RALL, T. W.; NIES, A. S.; TAYLOR, P. *The pharmacological basis of therapeutics.* 8ª edição, Pergamon Press, NY, 1990.

GIULIANO, R.; RUGGIERO, D. A.; MORRISON, S.; ERNSBERGER, P. and REIS, D. J. Cholinergic regulation of arterial pressure by C1 area of the rostral ventrolateral medulla. *The Journal of Neuroscience.* Vol. 9, n. 3, pp. 923 – 942, 1989.

GOMES - FILHO, A. *Efeitos da intensidade do exercício e da adrenodemedulação sobre as respostas metabólicas de ratos não treinados.* Dissertação de mestrado em fisiologia apresentada ao Departamento de Fisiologia e Biofísica do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, 2000.

GOODWIN, G. M.; MCCLOSKEY, D. I. e MITCHELL, J. H. Cardiovascular and respiratory responses to changes in central command during isometric exercise at constant muscle tension. *J. Physiol. (London)* Vol. 226, pp. 173 – 190, 1972.

GORDON, C. J.; PUCKETT, E.; PADNOS, B. Rat tail skin temperature monitored noninvasively by radiotelemetry: characterization by examination of vasomotor responses to thermomodulatory agents. *Journal of Pharmacological Methods*. Vol. 47, pp. 107-114, 2002.

GRIFFIN, J. E. e OJEDA, S. R. Textbook of endocrine physiology. 2ª edição. Oxford University Press, NY, 1992.

GUIMARÃES, J. B. *Efeitos do exercício à 0°C sobre a taxa de acumulação de calor em ratos adrenodemedulados*. Monografia de conclusão de curso apresentada pra obtenção do título de Licenciatura em Educação Física. Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional, UFMG, 1º semestre de 2003.

GUIMARÃES, J. B. *A fadiga no exercício físico é modulada pela neurotransmissão colinérgica dos núcleos ventromediais hipotalâmicos, em ambiente frio*. Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós – Graduação em Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional da Universidade Federal de Minas Gerais, 2007.

GUIMARÃES, S. e MOURA, D. Vascular adrenoceptors: an update. *Pharmacological Reviews*. Vol. 53, pp. 319 – 356, 2001.

GUYENET, P. G. The sympathetic control of blood pressure. *Nature Reviews Neuroscience*. Vol. 7, pp. 335 – 346, 2006.

HAMMEL, H. T. Neurones and temperature regulation. AMRL-TR-65-232. *AMRL TR.* pp. 1 – 32, 1965.

HODEL, A. Effects of glucocorticoids on adrenal cromaffin cells. *Journal of Neuroendocrinology.* Vol. 13, pp. 217 – 221, 2001.

HOLZWARTH, M. A.; SHINSAKO, J.; DALLMAN, M. F. Adrenal regeneration: time course, effect of hypothalamic hemi – islands and response to unilateral adrenalectomy. *Neuroendocrinology.* Vol. 31, pp. 168 – 176, 1980.

HONMURA, A.; YANASE, M.; SAITO, H. and IGUSHI, A. Effect of intrahypothalamic injection of neostigmine on the secretion of epinephrin and norepinephrine and on plasma glucose level. *Endocrinology.* Vol. 130, pp. 2997 – 3002, 1992.

IGUSHI, A.; KUNOH, Y.; GOTOH, M.; MIURA, H.; UEMURA, K.; TAMAGAWA, T e SAKAMOTO, N. Relative contribution of nervous system and hormones to CNS – mediated hyperglycemia is determined by the neurochemical specificity in the brain. *Physiology and Behavior.* Vol. 50, n. 5, pp. 1019 – 1025, 1991.

IMAI, Y.; ABE, K.; SASAKI, S.; MINAMI, N.; MUNAKATA, M.; YUMITA, S.; NOBUNAGA, T.; SEKINO, H. and YOSHINAGA, K. Role of vasopressin in cardiovascular response to central cholinergic stimulation in rats. *Hypertension.* Vol. 13, pp. 549 – 557, 1989.

JOHNSON, J. M. e PARK, M. K. Reflex control of skin blood flow by skin temperature: role of core temperature. *J. Appl. Physiol.* Vol. 47, n° 6, pp. 1188-1193, 1979.

KAUL, C. L. e GREWAL, R. S. Effect of physostigmine upon the output of catecholamines from the adrenal gland of the rat. *Journal of Pharmaceutical Sciences.* Vol. 57, n. 10, pp. 1741 – 1744, 1968.

KELLOG Jr., D. L.; PERGOLA, P. E.; PIEST, K. L.; KOSIBA, W. A.; CRANDALL, C. G.; GROSSMANN, M.; JOHNSON, J. M. Cutaneous active vasodilatation in humans is mediated by cholinergic nerve. *Circulation Research.* Vol. 77, n. 6, pp. 1222 – 1228, 1995.

KRISTIC´, M. K. and DJURKOVIC´, D. Cardiovascular response to intracerebroventricular administration of acetylcholine in rats. *Neuropharmacology.* Vol. 17, pp. 341 – 347, 1978.

KUBO, T. and MISU, Y. The nucleus reticularis dorsalis: A region sensitive to physostigmine. *Neuropharmacology.* Vol. 22, n. 9, pp. 1155 – 1158, 1983.

KUBO, T. Cholinergic mechanism and blood pressure regulation in the central nervous system. *Brain Research Bulletin.* Vol. 46, n. 6, pp. 475 – 481, 1998.

KUBO, T.; OKATANI, H.; KANAYA, T.; HAGIWARA, Y.; FUKUMORI, R.; GOSHIMA, Y. Cholinergic mechanism in lateral septal area is involved in the stress-induced blood pressure increase in rats. *Brain Research Bulletin*. Vol. 59, pp. 359- 364, 2003.

LANDSBERG, L.; ELIZABETH SAVILLE, M. e YOUNG, J. B. Sympathoadrenal system and regulation of thermogenesis. *American Journal of Physiology (Endocrinol. Metab.)*. Vol. 247, n. 10, pp. 181 – 189, 1984.

LAZARTIGUES, E.; FRESLON, J. L.; TELLIOGLU, T.; BREFEL- COURBON, C.; PELAT, M.; TRAN, M. A.; MONTRASTUC, J. L.; RASCOL, O. Pressor and bradycardiac effects of tacrine and other acetylcholinesterase inhibitors in the rat. *European Journal of Pharmacology*. Vol. 361, pp. 61-71, 1998.

LEE, S. B.; KIM, S. Y. and SUNG, K. W. Cardiovascular regulation by mechanisms in rostral ventrolateral medulla of spontaneously hypertensive rats. *European Journal of Pharmacology*. Vol. 205, pp. 117 – 123, 1991.

LI, J.; BREZENOFF, H. E. e TKACKS, N. C. Identification of pressure regions activated by central cholinergic stimulation in rat brain. *European Journal of Pharmacology*. Vol. 337, pp. 227 – 233, 1997.

LIMA, N.R.V.; COIMBRA, C.C.; MARUBAYASHI, U. Effect of intracerebroventricular injection of atropine on metabolic responses during exercise in untrained rats. *Physiology Behavior*. Vol.1, n. 64, 69 – 74, 1998.

LIMA, N. R. V. *Efeitos da injeção de metilatropina nos núcleos ventromediais do hipotálamo (HVM) de ratos durante o exercício*. Tese de Doutorado apresentada ao Departamento de Fisiologia e Biofísica do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG, 2000.

LIMA, N. R. V.; PEREIRA, W.; REIS, A. M.; COIMBRA, C. C. and MARUBAYASHI, U. Prolactin release during exercise in normal and adrenomodulated untrained rats submitted to central cholinergic blockade with atropine. *Horm. Behav.* Vol. 40, pp. 526 – 532, 2001.

MATTHEW, C. B.; FRANCESCONI, R. P.; HUBBARD, R. W. Physostigmine: dose – response effects on endurance and thermoregulation during exercise. *Life Sciences*. Vol. 50, n. 1, pp. 39-44, 1992.

MEDINA, A.; BIDOCK, N.; GOLDBERGER, A. L.; MAHON, M. M.; LIPSITZ, L. A. Effects of central muscarinic-1 receptor stimulation on blood pressure regulation. *Hypertension*. Vol. 29, pp. 828 – 834, 1997.

MILUTINOVIC´, S.; MURPHY, D. And JAPUNDŽIĆ´-ŽIGON, N. Central cholinergic modulation of blood pressure short-term variability. *Neuropharmacology*. Vol. 50, pp. 874 – 883, 2006.

MORRISON, S. F. Differential control of sympathetic outflow. *Am. J. Physiol. Regulatory Integrative Comp. Physiol.* Vol. 281, pp. 683 – 698, 2001.

MOUTCASTLE, V. B. *Medical Physiology*. 14^a edição, Vol. 2. Editora The C. V. Mosby Company, St. Louis, 1980.

NOAKES, T. D. Physiological models to understand exercise fatigue and the adaptations that predict or enhance athletic performance. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*. Vol. 10, n. 3, pp. 123 – 145, 2000.

O'DONAUGHY, T.; RESTA, T. C. and WALKER, B. R. Laboratory demonstration of baroreflex control of heart rate in conscious rats. *Advances in Physiology Education*. Vol. 26, pp. 309 – 316, 2002.

O'LEARY, D. S.; JOHNSON, M. e TAYLOR, W. F. Mode of neural control mediating rat tail vasodilatation during heating. *J. Appl. Physiol.* Vol. 59, n. 5, pp. 1533 – 1538, 1985.

OWENS, N. C.; OOTSUKA, O.; KANOSUE, K. e McALLEN, R. M. Thermoregulatory control of sympathetic fibres supplying the rat's tail. *Journal of Physiology*, Vol. 543.3, pp. 849- 858, 2002.

PALMA, E.; MUSCOLI, C.; MANCUSO, E.; SCULCO, F.; SACCO, I.; ALECCE, W.; COSTA, N.; COLICA, C.; CRISTIANO, D.; ROTIROTI, D. e MOLLACE, V. The role of nitrinergic connections in central cardiovascular responses mediated by physostigmine infused into posterior hypothalamus. *Neuroscience Letters*. Vol. 368, pp. 112 – 115, 2004.

PIRES, W.; WANNER, S. P.; LA GUARDIA, R. B.; RODRIGUES, L. O. C.; SILVEIRA, S. A.; COIMBRA, C. C.; MARUBAYASHI, U. e LIMA, N. R. V. Intracerebroventricular physostigmine enhances blood pressure and heat loss in ning rats. *Journal of Physiology and Pharmacology*. Vol. 58, n. 1, pp. 3 – 17, 2007.

PRADO, M. A. M.; REIS, R. A. M.; PRADO, V. F.; MELLO, M. C.; GOMEZ, M. V.; MELLO, F. G. Regulation of acetylcholine synthesis and storage. *Neurochemistry International*. Vol. 41, pp. 291 – 299, 2002.

PRAKASH, E. S.; MADANMOHAN, e PAL, G. K. What is the ultimate goal in neural regulation of cardiovascular function? *Adv. Physiol. Educ.* Vol. 28, pp. 100 – 101, 2004.

PRÍMOLA-GOMES, T. N. *Efeitos da injeção intracerebroventricular de fisostigmina sobre a termorregulação e o metabolismo pós – exercício em ratos*. Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós – Graduação em Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional da Universidade Federal de Minas Gerais, 2004.

PRÍMOLA-GOMES, T. N.; PIRES, W.; RODRIGUES, L. O. C.; COIMBRA, C. C.; MARUBAYASHI, U.; LIMA, N. R. V. Activation of the central cholinergic pathway increases post-exercise tail heat loss in rats. *Neuroscience Letters*. Vol. 413, pp. 1 – 5, 2007.

RAVEN, P. B.; FADEL, P. J. and SMITH, S. A. The influence of central command on baroreflex resetting during exercise. *Exercise and Sport Sciences Review*. Vol. 30, n. 1, pp. 39 – 44, 2002.

RODRIGUES, A. G. *Efeito da estimulação colinérgica central nas alterações metabólicas de ratos não treinados durante o repouso ou em exercício físico*. Dissertação de Mestrado apresentada ao Departamento de Fisiologia e Biofísica do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG, 2000.

RODRIGUES, A. G.; LIMA, N. R. V.; COIMBRA, C. C.; MARUBAYASHI, U. Intracerebroventricular physostigmine facilitates heat loss mechanisms in running rats. *J. Appl. Physiol.* Vol. 97, pp. 333 – 338, 2004.

RODRIGUES, L. O. C. e SILAMI-GARCIA, E. Fadiga: falha ou mecanismo de proteção? *Temas Atuais em Educação Física e Esportes III*. Belo Horizonte: Editora Health, pp. 27 – 48, 1998.

RODRIGUES, L.O.C.; SILAMI- GARCIA, E.; SOARES, D. D. Fisiologia da Termorregulação: conceitos básicos. *In: Novos Conceitos em Treinamento Esportivo, Publicações INDESP. Série Ciências do Esporte*, pp. 7- 25, 1999.

ROMANOVSKY, A. A.; IVANOV, A. I. e SHIMANSKY, Y. P. Ambient temperature for experiments in rats: a new method for determining the zone of thermal neutrality. *J. Appl. Physiol.* Vol. 92, pp. 2667- 2679, 2002.

ROMANOVSKY, A. A. Thermoregulation: some concepts have changed. Functional architecture of the thermoregulatory system. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* Vol. 292, pp. 37 – 46, 2007.

ROWELL, L. B. e O'LEARY, D. S. Reflex control of circulation during exercise: chemoreflexes and mechanoreflexes. *J. Appl. Physiol.* Vol. 69, n. 2, pp. 407 – 418, 1990.

ROWELL, L. B. Ideas about control of skeletal and cardiac muscle blood flow (1876 – 2003): cycles of revision and new vision. *J. Appl. Physiol.* Vol. 97, pp. 384 – 392, 2004.

SAVCI, V.; CAVUN, S.; GOKTALAY, G. and ULUS, I. H. Cardiovascular effects of intracerebroventricularly injected CPD-choline in normotensive and hypertensive animals: the involvement of cholinergic system. *Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* Vol. 365, pp. 388 – 398, 2002.

SAWASAKI, N.; IWASE, S.; MANO, T. Effect of skin sympathetic response to local or systemic cold exposure on thermoregulatory functions in humans. *Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical.* Vol. 87, pp. 274-281, 2001.

SCHEURINK, A. J. W.; STEFFENS, A. B. e GAYKEMA, R. P. A. Hypothalamic adrenoceptors mediate sympathoadrenal activity in exercising rats. *Am. J. Physiol.* 259 (Regulatory Integrative Comp. Physiol. 28): pp.470 – 477, 1990.

SILVA, G. J. J.; BRUM, P. C.; NEGRÃO, C. E.; KRIEGER, E. M. Acute and chronic effects of exercise on baroreflexes spontaneously hypertensive rats. *Hypertension*, Vol. 30, pp. 714 – 719, 1997.

STEWART, G. N. and ROGOFF, J. M. The action of drugs upon the output of epinephrin from the adrenals. VII. Physostigmine. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. Vol. 17, pp. 227 – 248, 1921.

SWOAP, S. J.; OVERTON, M. e GARBER, G. Effect of ambient temperature on cardiovascular parameters in rats and mice: a comparative approach. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* Vol. 287, pp. 391 – 396, 2004.

TAIRA, C. A. Muscarinic receptor subtype involvement in brain cholinergic stimulation by intracerebroventricular neostigmine in sinoaortic denervated rats. *Gen. Pharmac.* Vol. 31, n. 4, pp. 583 – 588, 1998.

UNAL, C. B.; DEMIRAL, Y.; ULUS, I. H. The effects of choline on body temperature in conscious rats. *European Journal of Pharmacology*. Vol. 363, pp. 121-126, 1998.

WANNER, S. P. *O exercício físico induz ajustes termorregulatórios e cardiovasculares que são mediados pela neurotransmissão colinérgica dos núcleos ventromediais hipotalâmicos*. Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós – Graduação em Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional da Universidade Federal de Minas Gerais, 2006.

WANNER, S. P.; GUIMARÃES, J. B.; RODRIGUES, L. O. C.; MARUBAYASHI, U.; COIMBRA, C. C.; LIMA, N. R. V. Muscarinic cholinergic receptors in the ventromedial hypothalamic nucleus facilitate tail heat loss during physical exercise. *Brain Research Bulletin*. Vol. 73, pp. 28 – 33, 2007.

WEBB, P. The physiology of heat regulation. *Am. J. Physiol.* 268 (*Regulatory Integrative Comp. Physiol.* 37) pp. 838 – 850, 1995.

WILLETTE, R. N.; PUNNEN, S.; KRIEGER, J. A. and SAPRU, H. N. Cardiovascular control by cholinergic mechanisms in the rostral ventrolateral medulla. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. Vol. 231, n. 2, pp. 457 – 463, 1984.

WINDER, W. W.; YANG, H. T.; JAUSSE, A. W. and HOPKINS, C. R. Epinephrine, glucose, and lactate infusion in exercising adrenalectomized rats. *J. Appl. Physiol.* Vol. 62, n. 4, pp. 1442 – 1447, 1987.

YANAGIYA, Y.; YOSHIMURA, R.; HORI, M.; KUWAHARA, M.; TSUBONE, H. e SUGANO, S. The influence of chronic sympathectomy on cutaneous blood flow in the rat tail. *J. Vet. Med. Sci.* Vol. 61, n. 7, pp. 795 – 801, 1999.

YOUNG, A. A. and DAWSON, N. J. Evidence for on - off control of heat dissipation from tail of the rat. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* Vol. 60, pp. 392 - 398, 1982.

ZHANG, D.; ANDO, M.; YAMASAKI, F. and SATO, T. Carotid – sinus baroreflex modulation of core and skin temperatures in rats: An open – loop approach. *Japanese Journal of Physiology*. Vol. 56, n. 6, pp. 461 – 466, 2003.

ZARROW, M. X.; YOCHIM, Y. M. and McCARTY, J. L. *Adrenal demedullation*. In. *Experimental Endocrinology* Academic Press, New York, pp. 166 – 167, 1964.